CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung. II. Band.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde

und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Prof. Dr. **M. W. Beijerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. Oscar Uhlworm in Cassel.

Zweite Abteilung. II. Band.

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

Mit 5 Tafeln und 27 Abbildungen im Texte.

Jena,

Verlag von Gustav Fischer.

1896.

Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung.

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Prof. Dr. M. W. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

II. Bd. Jena, den 25. Januar 1896. **No. 1.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige ***Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original-Mittheilungen.

On the endospore formation and general description of a red yeast.

By

Allan P. Swan, F.L.S.

of

Bandon, Cork (Ireland).

With 8 figures.

The Saccharomyces or yeast fungi, are classed among the Ascomycetes from their tendency — under certain conditions — to produce

endospores, thus being distinguished from other toruloid cells which possess no such provision. Their function fermentative or otherwise has nothing to do with this classification, which is a purely morphological one: and for this reason the investigation of the life history of these cells, would best be attained by observations which nearly approach *the natural outside (open air) conditions of their existence*, as opposed to the more or less artificial operations in the practice of commercial fermentation.

Of the origin of commercial yeast, we knew nothing definite, it has been handed on to us for generations; of course the original fermentation must have started from air borne organisms, just as the so called "spontaneous" fermentations occur to-day. The fermentations from which we obtain our yeast supplies, are operations casried on by a careful control of the conditions most favourable to the life of the yeast cell: these operations being utterly different to the natural open air life of such organisms, under which they must struggle for themselves, and be prepared to resist unfavourable changes, never met with in the ordinary life of yeast.

Commercial yeast does not produce spores unless starvation conditions are applied, and these must be prolonged over a long period, such conditions are only realised in our laboratories for purposes of study.

The difficulty with which spore formation is induced, must be due to the cells having — through disuse-partially lost the habit, after such long periods of favourable culture: This slow but sure return of the yeast to its original phase of spore formation. seems to some extent, to rob commercial fermentations of their artificial aspect, the yeast being considered as pressed into our service to perform an unusual fermentative function [1]).

While ordinary yeast would not produce spores in a nourishing medium, unless the time was extended beyond all usual limits, it is interesting to note that its cells, whilst unable to protect themselves by the endospore formation common among wild yeasts, are possessed of a far greater resistence and vitality in their active cell condition; enough indeed to justify the view, that their environment has gradually brought about increased resistance in the cell, to compensate for the loss of the provision of endospore formation.

Ascospores seem thus to subserve the function of an extraordinary protection against the unfavourable influences which would attack growing cells in their open air life; while some form of starvation, is the most frequent inducement to endospore formation, extremes of temperature seem to act as readily as deprivation of food

---

1) When working with Professor Hartog in the Laboratory of Queen's College, Cork, in 1886, as obtained an accidental contamination of a cover glass culture from the adjacent plant house, where the inoculation was made: It was a wild yeast which developed favorrably for 24 hours, and then produced ascospores, which were fully mature in another 48 hours: as these ascospores were the first I had ever seen, and were produced under such unusual circumstances. I was led to explain their appearance as the result of developement from an ascospore seed, believing that the tendency of development would naturally revert to the phase of cell from which it sprung.

or oxygen and the addition or abstraction of some special nutritive constituent, due to other competing life must have a constant bearing on the question. Such open air life in the cell condition must needs be a very precarious one: pure conditions are of course far removed, and competition with kindred life must cause the greatest difficulty. It is possible that very long periods are passed over in the torpid condition of air borne spores, and this phase may be considered as the most important one of their life history [1]).

Pasteur has shown that the ordinary cells of yeast, when dried will relatin their vitality for a year, and ascospores should be infinitely more resisting unfortunately the study of the outside life of such cells in attended with much difficulty, and does not seem to have been worked at except by Pasteur in his studies on the fermentation of wine: much however remains to be done and a clearer knowledge of the conditions under which endospores are formed in the open air, together with some observations on their resisting vitality to time, must be of the first importance.

Zopf [2]) and other authorties informe us of a red yeast known to the Germans as "Rosahefe", or Saccharomyces rosaceus, and various descriptions of such a yeast have from time to time appeared in the literature of the subject. There has however very naturally, always existed some doubt as to the proper classification of S. rosaceus among the true yeasts or Ascomycetes, as although it had been studied, no observer had been able to discover a true spore formation. Of the air borne distribution of S. rosaceus I have no experience, it never appeared in my laboratory at Bushmills spontaneously, and I have not until recently seen it in cultivation. It is however said to exist very commonly in the air, and a friend in Belfast tells me that it is present in his laboratory at the College, where he has often obtained it on boiled potatoes exposed for the observation of mould forms, if we are right in assuming that the spores of any kind of organism are its true resting condition, and that while in this phase of its existence it is best able to resist unfavourable environment, we are naturally led to conclude, that organisms which exist in the air, have already assumed the spore form for the sake of its greater protection, and as being in every sense best suited to a torpid life. Thus when we consider a yeast which is said to be widely distributed, we are necessarily induced to allow that its spore formation is very probable — indeed almost requisite — to account for the distribution itself, and this must be the reason why observers have long felt that the classification of "Rosahefe" amoñg the yeasts may have been correct, although it needed confirmation. Hansen's results on the study of the endospores of the Saccharomycetes point to a narrow range of high temperatures, and starvation conditions as essential to their ready production, but we shall see that S. rosaceus is an exception to this rule, which

---

1) The dried spores of Bacillus Megatherium have developed with me after 5 years torpidity. (See Annals of Botany. Vol. VII. 1893. p. 193.)

2) Die Pilze, pag. 416.

is perhaps the reason that it has escaped the efforts of observers working on his lines. The following are some interesting points which I have been able to make out in the life of a red variety of yeast, which is probably identical with the "Rosahefe" of the Germans.

The cells with which I started my observations, were obtained in January 1895, from a plate cultivation in wort-gelatine, which had been inoculated with a little albumen extracted with a pipette from a state egg. The two colonies which I found on the plate were of a dull coral colour, and in the earliest stages of growth, seemed to differ from ordinary yeast in this respect only, but after a certain time they grew upward well above the surface of the plate, eventually reaching about 2 millimetres in height. The plate was kept in a damp chamber at winter indoors temperature under 10° C.

Under the microscope the cells of this yeast are of an elongated elliptical form, not of a markedly different shape at the two ends, that is, not egg, shaped like some yeasts. They are fairly regular in size and about twice as long as they are broad, their measurement being $9 \times 6\,\mu$ for large cells and $6 \times 4\,\mu$ or less for small cells. They have two or more well defined vacuoles, and their contents are more than usually granular. The usual stains, Fuchsin, Majenta, or Methylene blue, act rather too quickly when used on dried cells. This may be accounted for by the great shrinkage which takes place on drying (equal to about 30%), as it must be accompanied by a thickening of the cell wall, it is for this reason advisable to dilute the stain, or to use a less energetic one like Ehrlich's Haematoxalin.

Inoculations in tubes of 10% wort-gelatine give a slow growth along the needle track at ordinary indoor temperature ranging from 10° to 14° C. This begins to be observable in about four days, after which time development becomes more rapid with a peculiar wrinkled appearance running in lines along the original needle track, and growing at these temperatures well above the gelatine surface. These irregularities on the surface growth afterwards coalesce, and become smooth, a change which is more observable in tubes covered with a rubber cap over the usual cotton wool. In tubes plugged with cotton wool only, the wrinkled appearance usually persists much longer. Needle inoculations thrust into the gelatine only grew favourably at the surface the track of the needle becoming barely visible and any slight growth below the surface being rapidly arrested for want of air. At cold temperatures, that is between 4.5° and 10° C there is no liquefaction of the gelatine, and macroscopically the growth — except for the wrinkled appearance — resembles that of other yeasts cultivated side by side with it. — At higher temperature — that is above 16° C — liquefaction of the gelatine takes place, it is evidenced from the early stages of development by the depression of the colony into the gelatine instead of growing upwards as would happen at a lower temperature: In needle streaks on an oblique surface, the gelatine runs from under the growth until it collects in a spot at the lowest level, the colony then slowly slides down into

it, and as liquefaction proceeds, it continues to fall, until it rests on the bottom of the tube, there is no visible growth after immersion.

By cultivation in tubes of wort-gelatine, kept in the light at a temperature between 5 and 10° C endospores are regularly produced, first on the surface of the colony only, afterwards throughout its substance. The tendency to spore formation is evidenced by protoplasmic aggregation as soon as the colony has risen well above the surface of the gelatine. This will happen in about ten days or a fortnight, in fourteen days more spore formation is complete throughout the mass of the colony, only excepting those cells which are immediately touching the nutrient substratum.

To produce the endospores readily light and air supply are necessary. At a steadily maintained temperature of 12° C mature spores were produced in the light in three weeks, while the oncoming of this process (as, shown by the aggregation of the protoplasm) is plainly visible in seven days, when kept in the dark at the same temperature, an identical tube showed only the earliest stages of sporulation in twenty days. Liberal air supply and light are required to produce the best and quickes results, cotton plugs should be open and loose fitting, and rubber capsules avoided, as their use will retard spore formation. At temperatures above 12,7° C I have seen no spores produced in gelatine tubes, but observations were not taken over long periods in a thermostatic chamber.

The readiness of this yeast to form endospores in gelatine, may be partly explained by its peculiar upward growth, which separates the superficial cells from the nutrient substratum — this upward growth is however not so marked in tubes as on plate cultivation, grown in the cold.

With other varieties of yeast in very old tubes, we can sometimes meet with an occasional cell containing endospores, but this marked tendency to produce them is quite exceptional[1]). The manner in which they are produced consists in the usual gradual thickening of the protoplasm, which contracts to leave the outer cell wall plainly visible with its separate outline. In those examples in which one spore only is to be formed, the protoplasm collects from the ends of the cell into a central globular mass of the same diameter as the breadth of the mother cell. When two spores are in course of formation the protoplasm collects more equally over its mass, but is somewhat blunter at the ends than the outer cell wall, it next shows signs of constriction at the middle, and this gradually goes on until complete separation takes place into two globular spores, which are nearly always of the same size. The number of spores is generally two, less often one, sometimes three or more spores are formed, but this is rare, only occurring in abnormally long cells, when it happens the spores are generally arranged in a chain.

---

1) S. Ludwigii and S. membranaefaciens, are stated by Hansen to produce their spores on nutrient-gelatine. But I have not met with them, unless the wild yeast referred to in note 1 belonged to the former species.

The young cells of this yeast undergo great change in liquified gelatine, due to plasmolysis, their protoplasm becomes so concentrated by loss of water that it is made to occupy only a central spot inside the cell, while the cell wall itself becomes so thin that it is only to be defined with difficulty. Cells taken from a tube which had been kept cold for a fortnight after the liquefaction of the gelatine, were treated with cold water for twelve hours without showing any signs of turgescence. Old cells showing normal protoplasmic arrangement before the liquefaction of the gelatine set in, escape with little change; and cells containing spores, remain quite unchanged, with then cell wall observable under a low power.

Polymorphism is evidenced by cover glass cultures in different media, with the same inoculation. In old cultures grown in yeast water, the cells show a tendency to arrange themselves in chains and even to grow as mycelia, with septate division, similar to that of Oidium lactis (see Pl. IV.)

Saccharine fluids tend to favour a scum growth at the surface, mature cover glass cultures — with the cells on the lower surface of the hanging drop — consist entirely of single cells, arranged with regularity, side by side.

The cells of this yeast can be easily cultivated in malt wort, or yeast water, and beautifully clean and regular results are obtained on boiled potatoes; when using the latter. I usually cut the potato in two and scooped out a recess for the inoculation with a track to the side to admit air.

By cultivation on cover glasses in malt-extract the development can be easely studied: the cells give one bud only which, always grows from the end of the parent cell. The young cell buds generally separates from the mother cell before it produces, onds of its own, it is for this reason unusual to observe more than two cells attached. When cultivated in yeast water — a yet more favourable medium — three or four cells may often be seen grouped together in chain form, the budding here takes place as in wort, always from the end of the parent cell with the difference that the buds spring from both ends, instead of single articles. In such cultivations this yeast — when at rest after development — shows well granulated cells with more or less distinct grouping of the vacuoles, but exhibits no such tendency to spore formation as is possessed by at least the wild yeast referred to above (see note 1).

In flask cultivations I have made use of malt extract of a specific gravity of 1050, the acidity and percentage of maltose being carefully estimated before inoculation. In a cold room at a temperature of 10° C growth was very slow, in about ten days a rosy scum (Kahmhaut) appeared on the surface of the liquid and continued to develop there until formed into a thick coating, on shaking the flask this scum at once subsided, another beginning to form the next day. By shaking the flask every three or four days, until the surface growth no longer appeared a layer of rosy yeast about one centimeter in depth was deposited from about ten centimeters of liquid, — which is an unusually large quantity. This and other similar

bulk cultivations were made in an ordinary room — with no fire, the temperature being as stated about 10° C the flasks were stopped with very light cotton plugs, and kept in the full light of the window.

Similar cultivations maintained at 29° C in a thermostat for 21 days, formed no scum, but gave a slight deposit of yeast, while duplicate flasks grown at 15° to 17° C near the window of the laboratory produced in contrast, constant scum formation and a heavy deposit of yeast. The flasks grown in the dark thermostatic chamber, at 29° C, showed early evidence of development in a slight deposit of yeast, but the growth become more and more languid, although the yeast continued to grow healthily if slowly.

Identical flasks of malt extract but charged repeatedly with CO_2 and sealed under pressure, gave no development whatever. When examined after 21 days the yeast was found old and granular, with no evidence of budding [1]).

The examination of the scum on the surface of the flasks grown in the window, showed nothing resembling or mycelium and no tendency to spore formation: both the scum and deposit retained their dark coral colour. In none of my flasks were any of the usual evidences of fermentation produced; a neither frothing nor excape of gas could be observed.

A chemical examination of the liquid in the flasks, and careful distillation, gave no evidence of the alcoholic or any other fermentation, in the usual sense of the word, but showed rather that the albuminoid constituents of the malt extract, were taken up with oxygen from the air to favour simple vegetation.

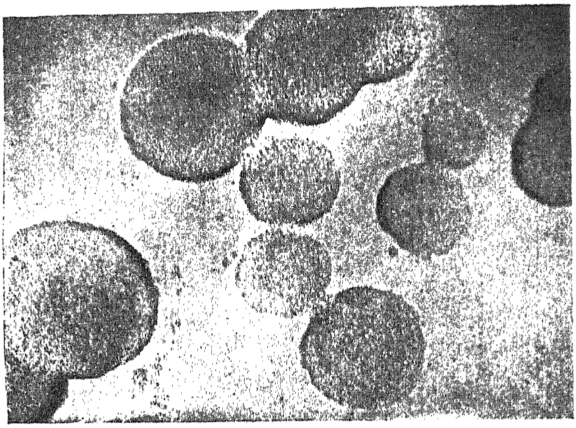
Wort in which the maltose had been hydrolysed with commercial yeast before sterilisation — gives the same result as ordinary malt extract.

On testing to show if this yeast would resist the same high temperatures as commercial varieties I did not succeed in obtaining growth, after its active cells had been exposed to a higher temperature than 43° C and it occurs to me that this test might, be a useful one in assisting us to discriminate wild yeasts from the more resisting varieties in commercial use.

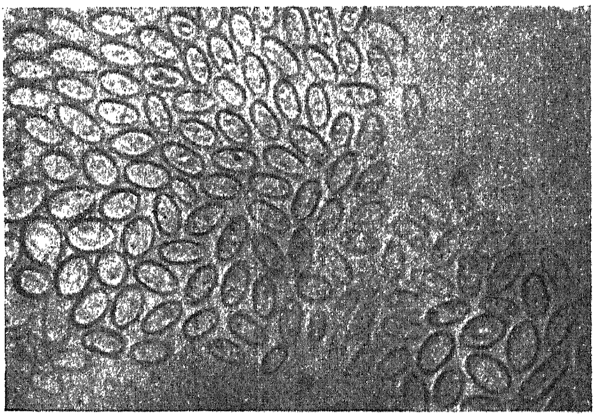
Deposits of cells from flasks washed and frequently decanted, then slowly filtered and dried retained then vitality; while cells from a "Kahmhaut" dried in the sun without delay — on a glass slip — would not awaken to life.

To summarise. This rosy yeast is of an elliptic shape and about 8×5 micros in size, it is very aerobic and is also sensitive to light. It grows favourably in wort gelatine of 10 % strength and at temperatures between 4.5° & 10° C will produce its fully matured spores in less than a month. It has a marked tendency to grow upward above the surface of the gelatine when cultivated on

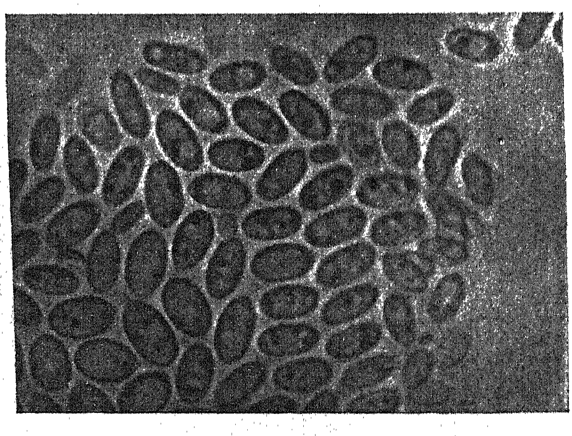
1) As I have more than once isolated a red yeast from the deposit in Messrs Guiness's stout bottles it follows that there must either be more than one variety, or else that it can adapt itself to anaerobic conditions of life.



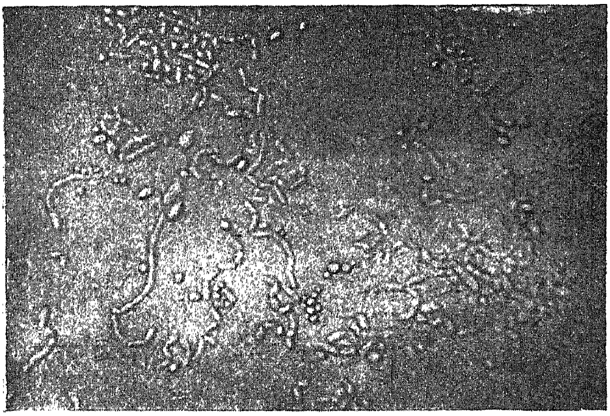
No. I. $^{40}/_{1}$.



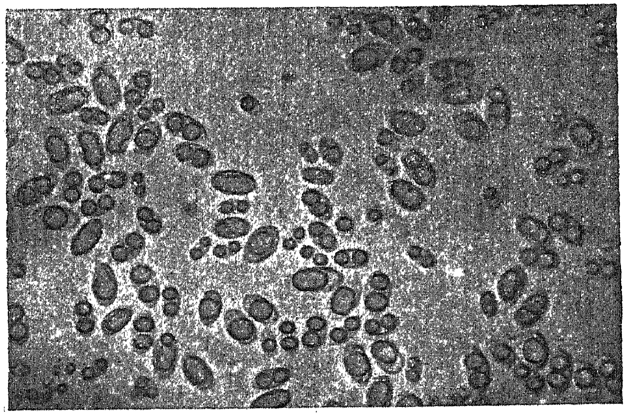
No. II. $^{800}/_{1}$.



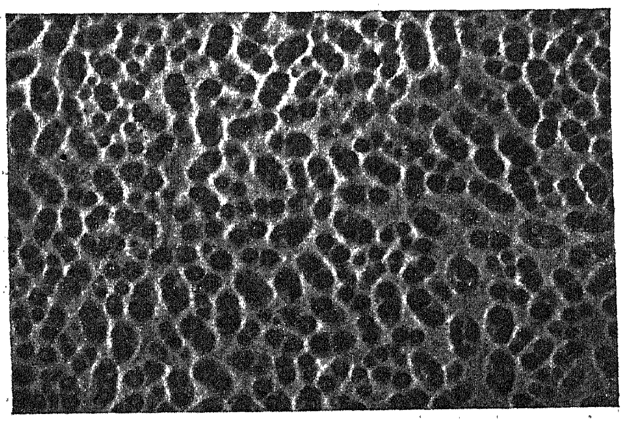
No. III. $^{1200}/_{1}$.



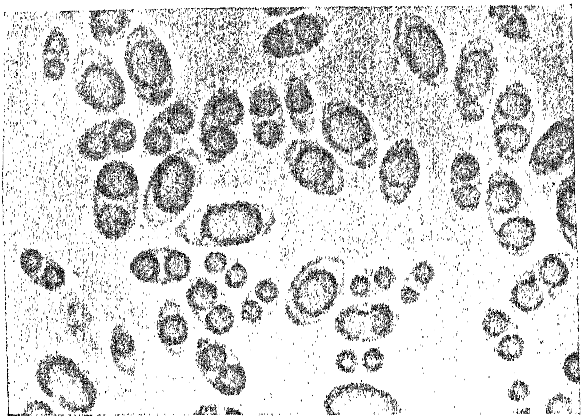
No. IV. $^{280}/_{1}$.



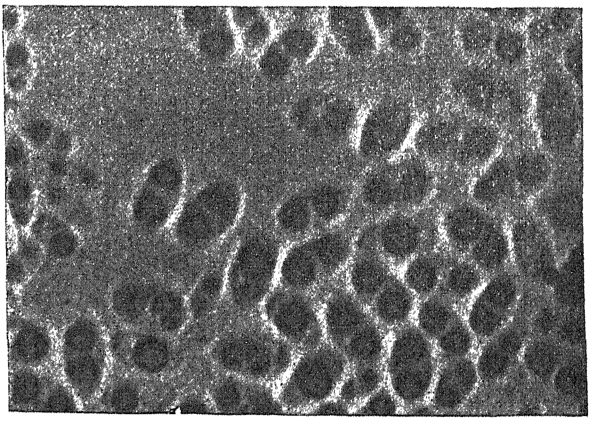
No. V. $^{800}/_{1}$.



No. VI. $^{800}/_{1}$.



No. VII. 1400/1.



No. VIII. 1400/1.

Explanation of reduced micrograph plates of S. rosaceus taken direct from living cultures in wort gelatine.

I)	Plate grown colonies in wort gelatine 4 days old	40/1
II)	Cells from an old scum Rahmhaut	800/1
III)	Cells from an old scum Rahmhaut	1200/1
IV)	Old cover glass cultivation in yeast water. Showing mycelium Oidium like vegetation	280/1
V)	Young ascospores and in course of formation	800/1
VI)	Ascospores fully mature	800/1
VII)	Young ascospore formation	1400/1
VIII)	Ascospores fully mature	1400/1

The accompanying micrographs were all taken direct from the living cells and can be reduced to actual measurements by calculation from the magnifications given. I thought it best to follow this course, as definition is not improved by staining, and considerable shrinkage takes plan when the cells are dried. To avoid movement in the cells it is best to make temporary mounts in liquified nutrient gelatine, after wards pressing the cover glass well down, that only a thin film of material will remain under it, such a mount can be made in a minute.

plates, and a characteristic appearance in tubes; at temperatures above 15° C the gelatine it liquified, winter grown colonies gradually sinking to the bottom of the tube as the warmth of spring comes round. In bulk cultures of malt extract, grown near a window's light, a thick scum of red coral colour forms in about ten days, on shaking this falls and another quickly takes its place, unusually large deposits of red yeast can be collected this way from liquids rich in albumen.

There is no endence of its capability of producing vinous fermentation. In flasks seald under CO_2 no development whatever takes place. Flasks grown in the dark fermed no scum (Kahmhaut) and gave but a slight deposit of yeast. Saccharine fluids rich in albumen favour the formation if scum, but they must have air, and light, and remain undisturbed, of vegetation is to be favourable.

In cover glass cultures polymorphism is marked with a tendency to grow in chain form with septate hyphae like Oidium lactis, this takes place in albuminous rather than saccharine media. In malt extract the cells grow generally in pairs and always by budding from the end of the parent cell: the cells may very considerably in size.

In the cell condition this yeast is not nearly so resisting as the commercial yeasts, but it assumes its endospore protection more readily, this suggests tome that the greather resistance in ordinary yeast cells, may be a compensation for their difficulty in assuming endospore protection.

This red yeast will not grow after heating in water above 43° C and its growing cells after being dried in the sun for 12 days, do not awaken to life: this sensibility when contrasted with the far greater resistence of cultivated yeasts, suggests an easy test, which might be employed for the identification of „wild yeasts", from the other varieties of the Saccharomycetes which are in constant industrial cultivation.

Bandon, Co Cork, 28th Octbr. 1895.

Bakterien-Gesellschaften.

Von

M. Jegunow, Assistent

in

Novo-Alexandrya.

Mit 6 Abbildungen.

In meinem Artikel: „Sur les sulfo-bactéries des limans d'Odessa"[1]) habe ich eine Schwefelbakterie beschrieben, welche

1) Arch. d. sciences biol. St. Petersbourg. T. III. 1895. No. 4.

eine Platte mit Säulen bildet. Ich habe auf die Zweckmäßigkeit einer derartigen Konstruktion dieser Platte hingedeutet. Daselbst habe ich bemerkt, daß ich noch andere Organismen gefunden habe und unter ihnen eine besonders interessante Art, welche eine eigenartige Platte baut, in welcher man beständige Veränderungen wahrnehmen kann. (. . . la plaque microbienne manifestait non seulement une structure fort singulière mais encore des deplacements continus.) Diese Organismen werde ich auch im Hauptsächlichen und Wesentlichen beschreiben, indem ich alle komplizierten Erscheinungen bei Seite lasse, da sie ausführliche Erklärungen und Illustration derselben durch viele Abbildungen verlangen, ohne welche sie nicht verständlich sein würden. Der Inhalt dieses Artikels ist von mir am 23. März 1895 in der Gesellschaft des Warschauer Naturforscher-Vereins vorgelegt und in seinem Protokoll abgedruckt worden[1]).

Geschichte der Kulturen. Die Kulturen wurden ebenso wie früher zubereitet. Als der Schmutz anfing von der H_2S-Ausscheidung schwarz zu werden, so erhob sich aus demselben in horizontaler Lage eine trübe Masse, welche allmählich einen schärferen Umriß und eine originelle Konstruktion erhielt. Die trübe Platte blieb in einiger Entfernung von der Wasseroberfläche stehen, verharrte in dieser Lage 5—9 Monate [die Dauer der Kultur ist unbegrenzt, wenn genug H_2S vorhanden ist; ich habe einige Kulturen in sehr kleinen Gefäßen (bis 1 ccm im Volum) schon ungefähr 1 Jahr] und senkte sich wieder sehr langsam in den Schmutz hinab. Als die trübe Platte die Oberfläche des Schmutzes berührte, so fing derselbe an grau zu werden (Oxydation) und diese graue Schicht nahm allmählich an Dicke zu.

Die Platte kann man zwingen, sich wieder zu erheben, indem man H_2S in die Kultur einführt oder den Luftzutritt verhindert.

Die Organismen sind frei, im jungen Zustande oval, die mehr älteren spiralig gewunden, dick, eingliedrig, zuweilen zweigliedrig (die sich teilenden) mit breiter glänzender Scheidewand, farblos, mit starker Lichtstrahlen-Brechung, beweglich (fließende Bewegungen), nie ruhig, sehr zart und enthalten Schwefelkörner. Die farblosen haben einen größeren Umfang, als die gefärbten. Es gelang nicht, Geißeln zu konstatieren, wegen der Zartheit der Organismen; auf dem Objektträger wurden einzelne von ihnen zerquetscht.

Umfang der farblosen: Breite bis 1,6 μ, Länge 5 μ,

Umfang der gefärbten: Breite von 1—1,4 μ, Länge von 2 μ bis 4 μ.

Ein besonders charakteristisches Merkmal dieser Organismen ist ihre Fähigkeit sich festzusetzen, was von großer Wichtigkeit ist. Vor ihrer Festsetzung werfen sie sich gleich einem Pfeile in gerader Linie auf ihre künftige Befestigungsstelle. Die Bewegung ist eine so schnelle, daß man den Organismus auf einen Moment aus dem Auge verliert. Nachdem sie sich einzeln, öfters zu zweien oder in Gruppen festgesetzt haben, erzeugen sie eine beständig übereinstimmende kreisförmige Bewegung, d. h. alle nach einer Richtung.

1) C. R. de la Section biologique. Varsovie.

Vor dem Losreißen verstärktes Zittern. Sie verfolgen einander. In hängenden Tropfen vereinigen sie sich zu dichten Ansammlungen — Schwärmen.

Konstruktion der Bakterien-Platte. Sie ist streng horizontal, von gleichmäßiger Dicke, welche niemals 0,2—0,3 mm [1]) übersteigt. Es bilden sich immer, wenn die Dicke, d. h. die Menge der Organismen sich vermehrt, trichterförmige Vertiefungen infolge großer Ansammlung von Organismen an bestimmten Punkten. Diese Vertiefungen (Durchschnitt $1—1^1/_2$ mm, in der Höhe bis 0,5, sogar 1 mm) enden mit einem Quästchen (Mittellänge 3—4 mm). Eine solche dicht mit Trichtern bedeckte Platte hat zellenförmiges Aussehen. Wenn es an Organismen zur Bildung beständiger Quästchen mangelt, so finden zeitweilige Ausscheidungen der Trichter statt und die ausgeschiedenen Massen nehmen die Form von Kometen an (diese Erscheinung dauert einige Minuten).

Mechanismus der Gesellschaft. Um den Mechanismus der Erscheinungen zu erforschen, wurde ein horizontales Mikroskop verfertigt, welches 20—300 Mal vergrößert; für das Nehmen von Proben aus beliebigen Stellen der Bakterienbildungen wurde eine Pipette mit Kolben und Mikrometermutter (für kleine Bewegungen des Kolbens) verwandt, oder die Pipette wurde mit der Pravazschen Spritze verbunden, gebraucht.

Beim Einfallen der Lichtstrahlen von vorne und von oben unter einem Winkel von 10—30° auf schwarzem Grunde eines Ekrans scheinen die Bakterien-Gruppen glänzende grobkörnige Ansammlungen im dunkeln Wasserraum zu sein. Nach den Bewegungen und der Dicke sind die Platten den Kolonieen der verflüssigenden Organismen in Gelatinekulturen sehr ähnlich; nach dem Lichtspiel kann man sie am besten mit dem Gewoge auf einem Reflexionsstreifen des Mondes vergleichen.

Die Quästchen sind ununterbrochen thätige Fontainen oder Vulkane. In der Platte unweit der Trichter sind die Bewegungen der Organismen übereinstimmend; in den Trichtern fließen die Organismen den Wänden entlang (mit einer Geschwindigkeit von 0,02 mm in 1 Sekunde); hier bilden sie eine dichte Masse — die Achse der Fontaine, und nachdem sie bis zur Hälfte der Trichter gekommen sind, zerstreuen sie sich nach allen Richtungen, um in Form eines Regens wieder auf die Platte zurückzufallen. Bei geringer Vergrößerung (4—5 Mal) erscheint eine nicht sehr dicht mit Fontainen bedeckte Platte als glatte Fläche, auf welcher sich Hügel und regelmäßige Kegel mit ununterbrochener Organismen-Ausscheidung erheben. Der Effekt dieses Bildes wird noch dadurch vergrößert, daß man alles im Mikroskop umgekehrt sieht. — Zuerst (am 26. Okt.) gelang es mir, einen beständigen Ausfluß der Organismen aus den Trichtern (in den breiten Gefäßen) zu konstatieren und erst am 13. Nov. 1894 entdeckte ich in den schmalen Gefäßen (1 mm) auch

1) In den breiten Gefäßen wird die Dicke der Platte mit hundertstel Teilen des Millimeters ausgemessen.

eine Aufströmung der Organismen. Die Dauer dieser Ausscheidungen ist der Dauer der Kulturen gleich.

Bei periodischen Auswürfen (unterbrochenen) bilden sich Kometen. Dieses geschieht folgendermaßen: An irgend einer Stelle der Platte bilden die sich sammelnden Organismen eine einer Schüssel ähnliche Ausstülpung; die letztere, scheinbar zerreißend, scheidet ein Wölkchen aus; nach einigen Minuten bildet sich in demselben ein konzentrierter Kern, welcher schnell anfängt (bis 0,036 mm pro Sekunde), sich nach unten in den Schwefel-Wasserstoffgasraum zu begeben, indem er hinter sich eine leichte Spur nachläßt — den Schweif des Kometen. Zuletzt bleibt der Kern stehen, zerfließt und nähert sich, sich immer mehr verbreitend, der Platte. Die Ausstülpung bleibt noch lange auf der Platte und verbreitet zuweilen leichten, kaum bemerkbaren Nebel.

Hier haben wir es mit einer organisierten Gesellschaft, zum ersten Male auf der niedrigsten Stufe des Lebens entdeckt, zu thun. Dieser Gesellschaft gab ich den Namen „Fontainen-Platte“.

Wirkung äußerer Faktoren auf die Platte. Allgemeine Regel: Die Wirkung dieser Faktoren ist die, daß die Organismen genau der Bewegung der Flüssigkeitsmoleküle folgen werden, mag diese Bewegung durch Wärme oder mechanische Wirkungen hervorgerufen sein. Gegen Temperaturschwankungen ist die Platte sehr empfindlich: Annäherung warmer Gegenstände, wie Hände, Gesicht, ruft eine Krümmung derselben hervor; in einigen Fällen reagiert sie viel schneller, als das gewöhnliche Zimmerthermometer nach Celsius. Zuweilen ist das Arbeiten unmöglich, da sogar Veränderung in der Beleuchtung und die Nähe des Experimentators hinreichen, um die Bakterien-Gesellschaften in eine unorganisierte trübe Masse zu verwandeln. Solche Empfindlichkeit steht scheinbar größtenteils mit der Veränderung des spezifischen Gewichts in Verbindung: je geringer der Unterschied im spezifischen Gewicht der unteren und oberen Schichten der Flüssigkeit, um so größer ist die Empfindlichkeit der Platte und umgekehrt. Meine Gesellschaften sind zum Studium der Molekularbewegungen in Flüssigkeiten sehr geeignet.

Ein Wärmeerzeuger, z. B. eine Lampe in Entfernung von 1 m, ruft eine Neigung der Platte hervor, in diesem Falle gleiten die Trichter (mit den Quästchen) längs der Platte hin. Die Geschwindigkeit des Gleitens der Trichter steht in dierektem Verhältnisse zur Größe des Neigungswinkels.

Wenn der Neigungswinkel groß ist, so hat der Trichter die Form der Welle, welche man bei fortschreitender Bewegung der Oberflächen-Moleküle erhält, d. h. eine seiner Wände ist vorne sanft geneigt, auf der entgegengesetzten Seite steil. Die ausgeschiedenen Massen (Achsen der Trichter und Kometen) sind nicht vertikal, sondern der entgegengesetzten Seite der Strömung zugewandt, d. h. also so gelegen, als ob sie von der Inertionskraft hinausgeworfen worden sind und dem Trichter vorausgehen; da aber die inneren Teile der Fontaine nachbleiben, so erhält man eine charakteristische

Krümmung der Quästchen; in den Kometen sind die Krümmungen S-artig, weil die Bewegungen nach unten von längerer Dauer sind.

Wie deutlich sich auch hier die Schwerkraft, Chemiotaxis, Inertion äußern mögen, so muß doch noch folgendes bemerkt werden: Schwerkraft und Chemiotaxis sind in ihren Erscheinungen so ähnlich, so eng mit einander verbunden, daß es unmöglich wäre, sie zu unterscheiden und zu bezeichnen, wo die eine endigt und die andere anfängt.

Auf Grund mikroskopischer und mechanischer Analysen, welche

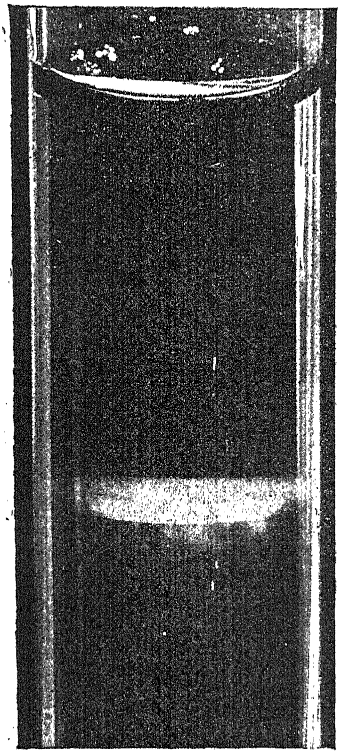


Fig. 1.

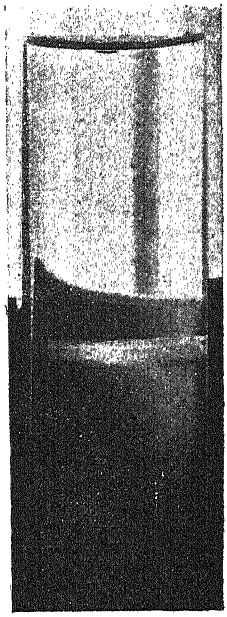


Fig. 2.

ich auch jetzt noch fortsetze, kann man, wie es mir scheint, schließen, daß diese zwei Erscheinungen verwandt sind oder die eine bloß ein Teil der andern ist.

Was die Inertion anbetrifft, so führt ein einfacher Vergleich der Bewegungen eines einzelnen Organismen mit denen eines Schwarmes zu folgender Definition dieses Begriffes: Die Inertion jeder Ansammlung lebender Individuen ist die Zeit, welche nötig ist, damit der Impuls, welcher hinreichend ist, um eine Aenderung in der Ruhe oder Bewegung hervorzurufen, zum Gesamt-Impuls für die ganze Gruppe wird.

Wie sonderbar es auch scheinen mag, so stoßen wir hier, ebenso wie bei höheren Organismen, bei verschiedenen Individuen einer und derselben Species, auf verschiedene Stufen von Empfänglichkeit und Reaktion gegen äußere Reize.

Die Platte wird sehr leicht zerstört: schroffe einmalige Bewegung des Gefäßes genügt, um die Zerstörung der Platte zu bewirken; in schmalen Gefäßen ist dieses nicht so leicht. Der Wiederaufbau einer zerstörten Platte ist sehr compliziert; hier sind, wie überhaupt bei Störungen von Ruhe und Gleichgewicht der Bakterien-Gesellschaften, alle Eigenschaften und Fähigkeiten der

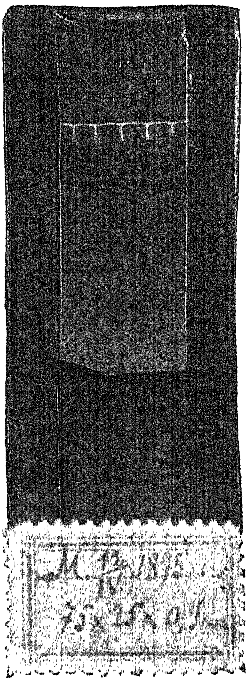


Fig. 3.

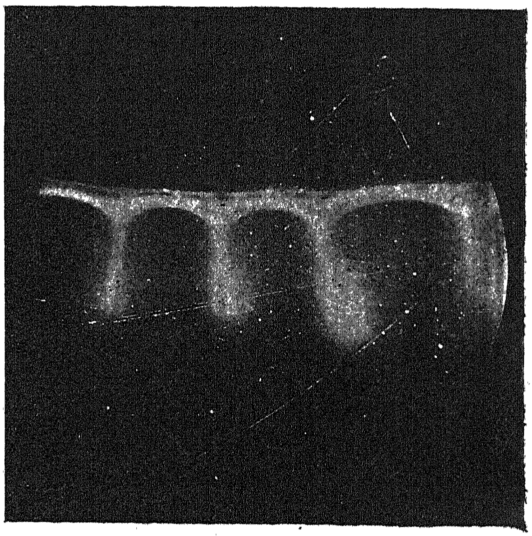


Fig. 4.

Organismen, wie Ansammlung in sitzenden und freien Schwärmen, Befestigung an den Gefäßwänden u. s. w., zu sehen.

Leider kann ich keine ausführlichen Erklärungen betreffs des Verhaltens der Organismen-Gruppen zu einander während des Plattenbaues geben, weil diese Erscheinungen sehr compliziert sind und zu ihrer Illustration sehr viele Abbildungen verlangen. Dasselbe muß man auch betreffs der Hebung und Senkung der Platte bemerken.

Experiment mit der Nadel. Wenn die Nadel durch die Platte geht, so bildet sich eine trichterförmige Vertiefung nach unten, beim Aufheben derselben ein umgekehrter Trichter; diese

Trichter verschwinden nach einigen Minuten, folglich klebt die Platte an der Nadel an. Um sich davon zu überzeugen, berührt man die Oberfläche der Flüssigkeit mit der Nadel: Die Organismen lösen sich

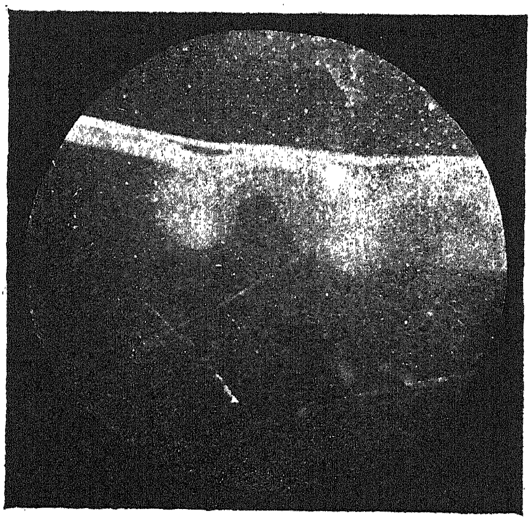


Fig. 5.

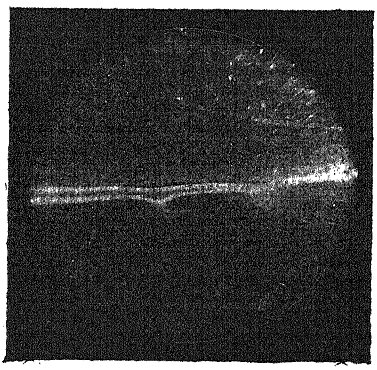


Fig. 6.

dann von der Nadel los, erscheinen auf der Oberfläche der Flüssigkeit und lassen sich in kometenartigen Figuren auf die Platte nieder. Dieses und noch andere Experimente bedingen die Annahme, daß die Bakterien eine zart schleimige Substanz aussondern, welche ihrer freien Bewegung nicht hinderlich ist.

Man kann künstliche Ausscheidungen und Quästchen unter folgenden Bedingungen hervorrufen: Man muß die Organismen an einen bestimmten Punkt zusammenziehen, z. B. durch ungleiche Erwärmung kann man die Organismen zur Bildung einer Vertiefung zwingen, indem man die Substanz der Platte selbst dazu benutzt. Auswärtige Körper sind absolut dazu untauglich; der feinste Staub geht ohne Hindernis durch die Platte durch und die gebildeten Trichter verschwinden spurlos nach einigen Sekunden; diese Trichter sind Ausstülpungen der Platte, aber keine Ansammlungen; Bedingung einer jeden Vertiefung — sei sie schüsselartig, wellenartig u. s. w. — ist eine dichte Ansammlung der Organismen an einem bestimmten Punkte der Platte.

H_2S-Verteilung. Indem ich mich meinen neuen Organismen anpaßte, verwarf ich die grobe Methode der H_2S-Bestimmung in verschiedenen Tiefen der Kultur, eine Methode, welche auch ich bei meiner vorhergehenden Arbeit [1]) gebraucht habe, und wandte meine Hauptaufmerksamkeit dem Charakter der H_2S-Verteilung in den Bakterienansammlungen zu.

Experimente mit dem Reaktionsfaden. Ein feiner Faden wird zuerst mit einer dünnen Fe_2Cl_6-Lösung, dann mit Ammoniak bearbeitet und ausgewaschen. Die $Fe_2(OH)_6$-Färbung muß kaum merkbar sein. Eisen ward gewählt 1), weil Eisen völlig unschädlich ist und 2) F_2S schnell oxydiert und auf diese Weise kann der Faden die Hebung und Senkung der Platte angeben, obgleich diese Angabe nicht sehr genau ist. Nachdem man ein Glasgewicht angebunden hat, läßt man den Faden hinunter. Nach einigen Minuten wird der untere Teil des Fadens bis zur Spitze der Fontaine intensiv schwarz, im Beginne der Fontaine zeigt sich ein allmählicher, aber scharf ausgeprägter Uebergang zur weißen Farbe, und in der Platte ist der Faden ganz weiß.

Hieraus folgt, daß bei Gruppierung der Organismen in Platten mit Fontainen die H_2S-Zerstörung vorzugsweise in den unteren Schichten der Gruppen vor sich geht, aber die Platte selbst außerhalb des H_2S liegt und nur Schwefel oxydiert, welcher von den Organismen während der Herauf- und Herunterbewegung in den Fontainen gesammelt ist. Wir können hier nicht nur die Stelle zweier Prozesse: H_2S-Oxydation in Schwefel und Oxydation des Schwefels in Schwefelsäure angeben, sondern auch berechnen, wie lange die Organismen H_2S gebrauchen. Wenn die Mittellänge der Fontaine 3 mm, die Geschwindigkeit der Bewegung der Organismen in den Fontainen 0,020 mm in 1 Sek. beträgt, so erweist sich für den Weg nach unten und nach oben eine Zeit von $^3/_{0,02} \times 2 = 300$ Sek. $= 5$ Minuten als erforderlich. Diese Zeit muß man ein wenig vergrößern, weil bei der Bewegung zur Platte Abweichungen vom Wege und sogar zeitweiliges Anhalten der Organismen vorkommen. Wie lange die Organismen im Bereiche der Platte bleiben, ist sogar annähernd schwer zu sagen. Die Zweckmäßigkeit eines solchen Baues der Gruppe ist klar: Vermehrung der Zahl der Organismen, Ver-

1) Ibidem.

größerung der oxydierenden Oberfläche, bequeme Form des Zusammenlebens.

Schwärme. 1) Unbewegliche. Wenn man die Bakterien-Gesellschaften auf rauhe Weise zerstört, so daß ein anhaltender H_2S-Geruch sich ausbreitet, so thun sich die Organismen zu dichten, großen Gruppen zusammen und befestigen sich unmittelbar unter der Wasseroberfläche. Wenn nicht sofort günstige Bedingungen eintreten, so sterben die betäubten Organismen und nach einigen Tagen kann man sehen, wie die Gruppen sich kaum auf dem Glase verbreitet und eine gelbe Schwefelfarbe (vom Schwefel) angenommen haben.

2) Sitzende Schwärme. Das sind Schwärme, welche sich zeitweilig an den Gefäßwänden befestigt haben. Ein Teil der Organismen ist immer frei; die befestigten Organismen befinden sich in einer ununterbrochenen kreisförmigen, schwingenden Bewegung, aber die freien umschreiben regelrechte Kreise. Die ununterbrochenen Bewegungen bewirken eine durch ihre Schönheit bemerkenswerte Erscheinung, welche sogleich einen sitzenden Schwarm zu erkennen giebt, das ist das Schwimmen der Schwärme.

3) Freie Schwärme. Diese Schwärme versammeln sich im freien Raume. Ich bin gezwungen, hier die Gesetze dieser Schwärme anzuführen:

1) Die fortschreitende Bewegung setzt sich aus kreisförmigen (oder spiraligen) Bewegungen einzelner Organismen zusammen und darum ist sie im Vergleiche zur Bewegung eines einzelnen Organismen langsamer.
2) Die vom Schwarm passierte Bahn ist chemisch verändert. Dieses folgt daraus, daß die Organismen, welche auf diesen Weg geraten, sich nicht kreisförmig, sondern geradlinig bewegen und diese Bahn behalten, ungeachtet ihrer bisweilen bedeutenden Krümmungen.
3) Die Durchbrechung einer Bahn geschieht bei dicht versammelten Organismen, welche makroskopisch als kompakte oder zusammengesetzte Massen erscheinen, mit geringerer Bewegung, als das bei einzelnen Organismen der Fall ist, und besteht aus Kreis-Trajektorien der einzelnen Organismen.
4) Die Bewegung auf der durchbrochenen Bahn geschieht durch weniger dicht angesammelte Massen einzelner Organismen leicht und schnell und besteht aus fortschreitenden geradlinigen Bahnen einzelner Organismen.

Ich bin auf diese Gesetze ausschließlich auf Grund von Beobachtungen über Bakteriengesellschaften gekommen, ohne die Analogie aus anderen Gebieten zu Hilfe zu nehmen.

Allgemeine Gesetze der Bakterien-Gesellschaften. Ich summiere jetzt alle Hauptgesetze meiner Gesellschaften:

1) Die Bakterien-Ansammlungen sind echte Gesellschaften freier (nicht vereinigter) Organismen, mit bestimmter Konstruktion und bestimmten Gesetzen.

2) Die Anziehungskraft auf einander und Bedingungen der Ernährung und Atmung zwingen dieselben, sich in dichten Massen zu versammeln und rufen einen bestimmten Bau hervor.

3) Jede dichte Organismenansammlung in der Platte ruft eine Senkung an dieser Stelle hervor, wie z. B. schüsselartige, einer breiten Welle ähnliche Vertiefungen u. s. w. und nach Verschwinden dieser Ansammlungen (oder Verdichtungen) und gleichmäßiger Verteilung der Organismen nimmt die Platte beständig eine streng horizontale Lage ein.

4) Die Dicke der Platte kann nur eine bestimmte sein; wenn die Zahl der Organismen eine größere ist, so bilden sich Quästchen, Kometen, schüsselartige Vertiefungen u. s. w.

5) Gesetze der Schwärme.

6) Gesetz des chemisch veränderten Raumes.

Platte mit Säulen. Da ich immer mehr Erfahrungen auf diesem Gebiete erworben habe, glaubte ich den Mechanismus der Platten mit Säulen, welche aus sehr feinen Spirillen gebildet und im Archiv der biolog. Wissenschaften beschrieben sind, zu entdecken, jedoch konnte mein horizontales Mikroskop sogar bei einer Vergrößerung bei 300 Mal im Bakterien-Nebel dieser Ansammlungen nichts entdecken.

Schwarzes Meer und die Limane. In den Limanen, wo die Tiefe einige Sashen nicht übersteigt, liegen die Schwefelbakterien auf dem Boden, dessen Oberfläche oxydiert, d. h. von grauer (aber nicht schwarzer) Farbe ist. Mit zunehmender Tiefe ist der Sauerstoffzutritt verringert und im Schwarzen Meere, bei einer Tiefe von 200 Metern, wo das Wasser schon mit Schwefel infiziert ist, sind die Schwefelbakterien gezwungen, den Boden zu verlassen, ins Wasser überzugehen und und eine dünne Schicht zu bilden, welche sich wahrscheinlich übers ganze Meer ausbreitet. Meine Voraussetzung wird noch dadurch bestärkt, daß ich, dank meiner Abkommandierung vom Institute, in diesem Jahre im Schwarzen Meere bis 21 m Tiefe und in den Limanen der Krim Organismen gefunden habe, welche bisweilen fast den hier beschriebenen ähnlich waren. Diese Voraussetzung wird dadurch noch mehr bestärkt, daß meine Kulturen mit dem Limanschmutz nichts anders als Aufhebung der Bakterien von der Oberfläche des Bodens sind. Alles das, was ich auf verschiedenem Wege erhalten habe, wie durch Verringerung des Sauerstoffzutritts, H_2S-Vermehrung oder Vergrößerung der Wassersäule, kann unter natürlichen Bedingungen, z. B. im Meere, durch Zunahme der Tiefe geschehen [1]). Es sei noch bemerkt, daß ich Organismen in originellen Ansammlungen in Süßwasserbassins entdeckte.

Die Hauptergebnisse meiner Forschungen sind folglich:

1) Entdeckung der Bakterien-Gesellschaften, und

2) neue interessante Bakterien-Species.

Novo-Alexandrija, bei Warschau (Rußland), am 10. November 1895.

---

1) Leider hatte ich keinen Dampfer zur Verfügung und daher konnte ich das Prinzip des Reaktivfadens zur Entdeckung der H_2S-Verbreitung und der Bakterienschicht nicht anwenden.

Erklärung der Abbildungen.

1) Kultur im breiten Gefäß (Durchmesser d. G. 18 mm)[1]. Die Bakterienplatte ist nicht dicht mit den kurzen Quästchen (Fontainen) verbunden.

2) Kultur im breiten Gefäß (Durchmesser d. G. 36 mm). Die Platte ist vollständig mit Fontainen bedeckt und hat daher zellenförmiges Aussehen.

3) Kultur in schmalen Gefäßen. (Die Dimensionen sind in Zahlen auf der Etiquette angegeben).

4) Dieselbe Platte bei Vergröß. 11 Mal. Die Platte hat das Aussehen einer Höhlung. Rechts sind die Fontainen gekrümmt, weil die Platte geneigt (gebogen) ist und die Trichter längs ihr fließen. Die Figur giebt die Möglichkeit, über das Verhältnis der vertikalen und horizontalen Faktoren (Summanden) der Geschwindigkeiten zu urteilen.

5) Dasselbe. (Vergröß. 11.) Bau und Lage der Platte sind sehr deutlich zu sehen.

6) Schüsselartige Vertiefungen längs der Platte fließend. (Vergr. 6.) Der Rauch, welcher immer ausgeschieden wird, bleibt ziemlich nach rechts, diese Vertiefungen fließen also nach links.

Zusammenfassende Uebersichten.

Ueber den Reifungsprozess der Käse.

Kritisches Sammelreferat

von

Dr. Valerian v. Klecki,

Assistent an der Lehrkanzel für Tierzucht und Molkereiwesen der k. k. Jagellonischen Universität in Krakau.

Die mit der Lebensthätigkeit von Mikroorganismen aufs engste verknüpften bei der Reifung des Käses auftretenden Erscheinungen sind in letzter Zeit zum Gegenstand umfassender und eingehender Forschungen geworden. Die diesbezügliche Litteratur ist so sehr angewachsen, daß es auch dem Eingeweihten öfters schwierig ist, das Gesamtgebiet klar zu überblicken oder über eine bestimmte Frage aus demselben eine vollkommen richtige Vorstellung zu gewinnen, zumal über noch so manches die Ansichten geteilt sind und die einzelnen Anschauungen ihr pro und contra in Gestalt von zum Teil sich widersprechender, von verschiedener Seite ermittelter Thatsachen aufweisen.

Anschließend an eine Untersuchung über die Beziehungen der Buttersäuregärung, speziell eines neuen Buttersäuregärungserregers, zum Reifungsprozeß des Quargelkäses, die bereits fertig vorliegt und demnächst im Centralblatt für Bakteriologie veröffentlicht werden wird, habe ich das Gesamtgebiet der beim Reifen der Käse auftretenden Erscheinungen historisch-kritisch zu bearbeiten versucht. Die vorliegende kritische Uebersicht soll einerseits die Gesichtspunkte, von denen ich bei der Abfassung meiner experimentellen Arbeit aus-

1) Ich halte es für bequemer, den Durchmesser der Gefäße als die Vergrößerung oder Verkleinerung zu bezeichnen, weil das die photographische Aufnahme und die Dimensionen daher streng proportionell sind.

gegangen bin, näher beleuchten und schließt sich an letztere, gewissermaßen als Einleitung, eng an; andererseits dürfte sie wohl auch sonst denjenigen willkommen sein, die sich mit verwandten Fragen beschäftigen.

Seitdem, dank den Untersuchungen von Adametz, Duclaux und von Freudenreich, sicher festgestellt worden ist, daß die chemischen Umwandlungen, welche in der frischen Käsemasse während des Lagerns vor sich gehen und die wir als „Reifung der Käse“ bezeichnen, durch Mikroorganismen veranlaßt werden, ist es zu einer der wichtigsten Aufgaben der Molkereiwissenschaft geworden, die bei der Reifung der Käse thätigen Bakterien und namentlich die von ihnen eingeleiteten chemischen Umsetzungen zu erforschen und den Zusammenhang der Thätigkeit verschiedener Typen von Mikroorganismen mit dem Verlauf der Reifung sowie den charakteristischen Eigenschaften der Käse klarzulegen.

In zwei verschiedenen Richtungen hat sich hierbei die wissenschaftliche Forschung zu bewegen, um das vorgezeichnete Ziel zu erreichen; einerseits muß auf rein chemischem Wege festgestellt werden, welcher Art die Umsetzungen sind, welche in der frischen Käsemasse, wie dieselbe aus der Presse kommt, während der Reifung platzgreifen; andererseits muß die Einwirkung verschiedener im Käse auftretender Arten oder richtiger gesagt, verschiedener Typen von Bakterien (Milchsäure-, Buttersäurebakterien, peptonisierende Bakterien etc.) auf die einzelnen Käsebestandteile studiert werden. Um schließlich einen unwiderlegbaren Beweis dafür zu besitzen, daß bestimmte Arten oder Typen von Mikroorganismen den Verlauf der Reifung in einer bestimmten Weise beeinflussen, ist es durchaus notwendig, den Zusammenhang einzelner Arten von Bakterien mit den Reifungserscheinungen verschiedener Käsesorten auf rein empirischem Wege, und zwar an kleinen Versuchskäsen sowie an Käsen, die unter Verhältnissen wie sie in der Praxis der Käserei bestehen, bereitet wurden, nachzuweisen.

Bei derartigen Untersuchungen hat man sich dessen bewußt zu sein, daß die „Reifung“ des Käses kein vollkommen einheitlicher Vorgang ist, daß nicht nur jede Käsesorte in einer ihr eigentümlichen Art und Weise reift, sondern daß auch dieselbe Käseart, abgesehen von der Bakterienflora, welche sie beherbergt, je nach den gerade vorhandenen äußeren Bedingungen (Beschaffenheit der zum Verkäsen verwendeten Milch, Temperatur und Feuchtigkeit des Reifungsraumes) in verschiedener Weise reifen kann, und daß andererseits verschiedene Arten von Bakterien, ungeachtet der Verschiedenheit einiger ihrer morphologischen und physiologischen Eigenschaften, die gleiche oder eine sehr ähnliche Wirkung auf die Käsebestandteile ausüben können, wenn ihnen nur eine wesentliche physiologische Eigenschaft gemeinsam ist. Es ist z. B. sehr wahrscheinlich, daß Bakterien, welche das Kaseïn zu peptonisieren vermögen, die gleiche oder eine ähnliche Rolle beim Käsereifungsprozeß spielen, wenn auch diese Bakterien untereinander nicht unbedeutende morphologische und physiologische

Unterschiede aufweisen können, deren Bedeutung für den Käsereifungsprozeß jedoch nur eine untergeordnete ist.

Was die chemischen Umwandlungen anlangt, welche beim Käsereifungsprozeß vor sich gehen, so sind dieselben zur Zeit keineswegs allseitig aufgeklärt, wenn auch zugegeben werden muß, daß die grundlegenden Arbeiten der Schulze'schen Schule über viele Fragen aus diesem Gebiete Aufschluß gegeben haben. Auf die Ergebnisse dieser Arbeiten müssen wir uns stützen, wenn wir die von einzelnen Bakterien in der Milch hervorgebrachten Umsetzungen zu denjenigen, die während des Reifungsprozesses des Käses (namentlich des Emmenthaler Käses) platzgreifen, in Beziehung bringen wollen.

Wenn die chemische Seite des Käsereifungsprozesses noch so viel zu wünschen läßt, so beruht dies einmal darauf, daß dieser Prozeß, je nach der Art der Bereitung des Käses (Temperatur beim Dicklegen, Bearbeitung des Bruches, Stärke des Pressens, Salzen etc.), also je nach der Käseart, und nach der Aufbewahrung desselben, sowie den in ihm enthaltenen Keimen, also je nach der Reifungsart, in verschiedener bis jetzt nicht genügend aufgeklärter Weise verlaufen kann, und zweitens, daß die chemischen Methoden der Käseanalyse noch sehr unvollkommen sind. Es haftet denselben nämlich der gemeinsame Mangel aller konventionellen Methoden an: Vergleichbarkeit der Resultate nur bei Einhaltung stets genau derselben Bedingungen; es kommt ihnen somit relativer und nicht absoluter Wert zu; ferner bietet die Untersuchung der Eiweißzersetzungsprodukte Schwierigkeiten, welche die Wissenschaft bis jetzt trotz zahlreicher Versuche durchaus nicht überwunden hat.

Es ist die chemische Seite des Käsereifungsprozesses ein wichtiges Moment bei der Erforschung der von Bakterien im Käse während der Reifung eingeleiteten Vorgänge, weil sie ja die Grundlage bilden muß zur Feststellung des Zusammenhanges einzelner bestimmte Stoffe produzierender Bakterien mit den Vorgängen bei der Reifung, die sich ja durch die Entstehung bestimmter Substanzen kund geben. Ist eine Bakterienart bei der Reifung einer Käsesorte thätig, so muß dieselbe aus den Bestandteilen der Milch Stoffe bilden, welche bei der Reifung der betreffenden Käsesorte entstehen und durch die chemische Analyse darin nachgewiesen worden sind.

Die Erklärung der von Bakterien im Käse eingeleiteten Vorgänge kann demnach nur auf Gruad einer Kenntnis der Chemie der Reifung erfolgen.

Chemie des Käsereifungsprozesses.

Die Bestandteile der frischen Käsemasse, die während der Reifung einer Zersetzung unterliegen, sind: 1) Das Parakaseïn; 2) der Milchzucker und 3) das Fett. Diese drei Stoffe liefern verschiedene Zersetzungsprodukte, die sich im gereiften Käse vorfinden. Während der Reifung erleidet zwar auch der Wassergehalt sowie der Gehalt des Käses an Mineralstoffen gewisse Veränderungen; jedoch sind letztere für die Erklärung der von Bakterien im Käse eingeleiteten Vorgänge zumeist belanglos. Durch die Untersuchungen von

Benecke und Schulze (X) sind die Veränderungen im Gehalte an Wasser und an Mineralstoffen vollkommen klargelegt worden.

Das Fett erfährt während der Reifung des Käses nur eine unbeträchtliche Veränderung. Eine Spaltung des Fettes in Glycerin und in freie Fettsäuren findet entweder gar nicht statt oder jedenfalls nur in sehr beschränktem Maße, wie dies Weidmann (VIII, 604) für den Emmenthaler Käse und Manetti und Musso (III, 226) für Parmesankäse nachgewiesen haben. Daß dem so ist, schloß Weidmann (VIII, 603) aus der Thatsache, daß der Aetherextrakt aus reifem Käse neben Neutralfett und etwas Cholesterin, freie Fettsäuren nur in sehr geringer Menge enthält. Auch Duclaux (XXVI, XXVII, 289) ist der Ansicht, daß die Spaltung des Fettes nur in beschränktem Maße erfolgt. Während der Reifung wächst die Alkalinität des Käses und es findet eine Verseifung des Fettes statt, indem die durch Spaltung des Fettes, wenn auch nur in geringer Menge entstehenden Fettsäuren von dem bei der Zersetzung des Kaseïns gebildeten Ammoniak neutralisiert werden. Zunächst findet dabei keine Oxydation statt, weil nach den Untersuchungen von Duclaux der hierzu nötige Sauerstoff von den in der frischen Käsemasse lebenden Aëroben verbraucht wird. Im weiteren Verlaufe der Reifung, nachdem schon ein Teil der entstandenen Fettsäuren durch Ammoniak neutralisiert wurde und der Käse überreif geworden ist, beginnt eine rasche Oxydation, wobei Harze und Oxysäuren entstehen. Die Ammoniaksalze dieser Säuren (z. B. der Oxyölsäure) sind schwarz und davon rührt auch die dunkle Färbung alter Käse her.

Der Milchzucker erfährt während des Reifungsprozesses entschieden eine wesentliche Zersetzung. In den wässerigen Extrakten aus gereiftem Emmenthaler Käse konnten Röse und Schulze (IX) niemals Milchzucker nachweisen, während sich derselbe im wässerigen Auszuge aus der frischen Käsemasse sehr leicht nachweisen läßt. Auch v. Klenze schreibt in seinem „Handbuch der Käsereitechnik“ (auf pag. 198), daß er in Gemeinschaft mit Eugling in magerem Schweizerkäse schon nach 48 Stunden den Milchzucker nur in eben noch chemisch nachweisbaren Mengen habe finden können. Das gleiche gilt auch für Weichkäse. Adametz hat in einem Quargelkäse, welcher zu Beginn der Reifung 2 Proz. Milchzucker enthielt, in späterem Reifungsstadium keine Spur Milchzucker gefunden. Aus diesen Thatsachen geht deutlich hervor, daß der Milchzucker während des Reifungsprozesses vollständig zersetzt wird. Nach Fleischmann („Handbuch des Molkereiwesens“) scheinen die Veränderungen, welche der Milchzucker in den Käsen erleidet, „am raschesten und schon lange vorher, ehe die Zersetzung der fetten und der eiweißartigen Körper ihren Anfang nahm“ zu erfolgen. Daß dem so ist, schließt Fleischmann aus dem häufigen Auftreten von zahlreichen „Augen“ im nach Schweizer Art hergestellten Käse schon nach 12—24 Stunden nach dem Formen. Auch Duclaux (XXVII, 279—280) schließt aus seinen Untersuchungen, daß der Milchzucker einer Zersetzung schon während der Gärung der noch frischen Käsemasse, also lange bevor das Kaseïn angegriffen wird, unterliegt. Daraus, daß der Milchzucker im gereiften Emmenthaler Käse niemals

nachweisbar ist und daß sich darin Milchsäure, wenn auch nur in sehr geringer Menge stets vorfindet, schlossen Röse und Schulze (IX), daß die Milchsäure aus dem Milchzucker entsteht, eine Annahme, die auch in der späteren, alle früheren Untersuchungen der Züricher Schule zusammenfassenden Arbeit von Benecke und Schulze (X) für berechtigt gehalten wird. Daneben halten es die Verf. der soeben citierten Arbeit für wahrscheinlich, daß auch die Buttersäuregärung im reifenden Käse eine Rolle spielt. Nach Benecke und Schulze (X) entstände die Buttersäure entweder durch Umwandlung der aus dem Michzucker gebildeten Milchsäure oder durch Zersetzung der Eiweißsubstanz (neben Valeriansäure und anderen flüchtigen Fettsäuren). Es muß hervorgehoben werden, daß der Milchzucker neben der Milchsäure- und Buttersäuregärung auch einer alkoholischen Gärung unterliegen kann, worauf Fleischmann („Handbuch des Molkereiwesens"), v. Klenze („Handbuch der Käsereitechnik") und Duclaux („Principes de laiterie" 279—280) aufmerksam machen.

Die Zersetzungen, welche der Milchzucker im reifenden Käse erfährt, sind auch deshalb von ganz besonderer Bedeutung, weil sie, sofern sie (mit einer Gasbildung verbunden sind, die „Lochung" (oder eventuell sogar „Blähung") des Käses, d. h. eine Durchsetzung der Käsemasse mit Gasblasen, bewirken können. Daß der Milchzucker das Material für einen mit Gasbildung verbundenen Zersetzungsprozeß, welcher die Lochbildung oder die Blähung des Käses zur Folge hat, bilden kann; und in den meisten Fällen auch bildet, ist durch die Untersuchungen von Adametz (XXIV), Duclaux (XXVII), v. Freudenreich (XV, XVI), Macfadyen (XVII) und Weigmann (XIII) sicher nachgewiesen worden. Weigmann (XIII, 742) glaubt sogar, daß bei der Lochung des Käses „sicher hauptsächlich, wenn nicht ausschließlich, der Milchzucker in Betracht kommt". Es muß jedoch hervorgehoben werden, daß auch die eiweißartigen Stoffe das Rohmaterial für eine mit Gasentwickelung verbundene Zersetzung darstellen können, wie dies die Untersuchungen von Duclaux beweisen. Deshalb macht auch Adametz (XXIV, 50) darauf aufmerksam, daß „unter gewissen Umständen eine Blähung auch später im weiteren Verlaufe der Reifung, wenn schon lange kein Milchzucker mehr vorhanden ist, eintreten kann".

Der Bestandteil des Käses, welcher neben dem Milchzucker die tiefgreifendste Zersetzung beim Reifungsprozeß des Käses erfährt, ist nach allen bisherigen chemischen Untersuchungen [welche — darauf muß ausdrücklich hingewiesen werden — sich hauptsächlich auf den Emmenthaler Käse, einige andere ähnliche Käsesorten (Greyerzer, Vacherin, Bellelay Schabziger) und den Kantalkäse beziehen] — das Parakaseïn, wie es scheint, im Wesentlichen die einzige in der frischen Käsemasse enthaltene stickstoffhaltige Substanz.

Eine Frage, die vielfach im Laufe der Zeit von mehreren Forschern angeregt wurde, ist die, ob während der Reifung des Käses aus dem Parakaseïn Fett abgespalten wird. Nach Blondeau (I) soll dies thatsächlich der Fall sein. Indessen stehen dieser Behauptung, der sich auch G. Musso und A. Menozzi (IV) (auf Grund von

Beobachtungen am Strachinokäse) anschließen zu müssen glaubten, die Ergebnisse anderer Forscher entgegen. Weder Müller (bei schwedischem nach Cheddarmethode hergestelltem Käse) und Sieber (VI) (bei Roquefortkäse), noch Kellner (VII) (bei Allgäuer Backsteinkäse) konnten eine Zunahme des Fettes während der Reifung konstatieren und Duclaux (XI, 287) bestreitet eine solche entschieden. Nach Duclaux kennen wir bis jetzt keine Thatsachen, welche uns dazu berechtigen sollten, an eine Bildung von Fett aus Kaseïn zu glauben. Die Ursache der scheinbar abweichenden Ergebnisse anderer Forscher beruht nach Duclaux (XXVII, 330—331) auf einer unrichtigen Deutung der Thatsachen. Die falsche Anschauung wird erklärt durch die Nichtberücksichtigung folgender zwei Momente: 1) Da bei der Reifung das Kaseïn angegriffen wird (wobei jedoch kein Fett entsteht), während das Fett keine (wenigstens keine wesentliche) Veränderung erleidet, so wächst mit dem Fortschreiten des Reifungsprozesses das Verhältnis des Fettgehaltes zum Kaseïngehalte; es findet somit eine relative aber keine absolute Zunahme des Fettgehaltes statt. 2) Da der Aether außer dem Fett auch einige Eiweißzersetzungsprodukte löst und auch das Kaseïn in Gegenwart von alkalischen Seifen im Aether eine Emulsion bildet, so wächst mit der Reifung der Aetherextraktgehalt (aber nicht der Fettgehalt).

Mit der Frage, ob bei der Zersetzung des Parakaseïns Fett gebildet wird, beschäftigten sich auch Benecke und Schulze (X). Diese Forscher benutzten zu ihren Untersuchungen einen 38440 g wiegenden Emmenthaler Käse und fanden, daß der Trockensubstanzgehalt des aus demselben erhaltenen Aetherextraktes während der Reifung um 145 g (= 0,38 Proz. des frischen Käses) zugenommen hatte. Diese Zunahme übersteigt entschieden die Größe der möglichen Analysenfehler und zwingt die Verff., es wenigstens für sehr wahrscheinlich zu erklären, daß während des Reifungsprozesses des Versuchskäses eine geringe Zunahme der Aetherextraktmenge stattgefunden hat. Es ist aber eine andere Frage, ob die Zunahme der Aetherextraktmenge auf eine Bildung von Fett (Glyceriden) auf Kosten von Kaseïn oder auf das Entstehen von freien Fettsäuren zurückzuführen ist. Die von Benecke und Schulze angestellten Versuche und Betrachtungen führen die Verff. zu dem Schluß, daß „eine Zunahme des eigentlichen Fettes, d. h. der Glyceride nicht konstatiert ist, und daß, wenn eine Bildung solcher Stoffe auf Kosten von Eiweißstoffen etwa doch stattgefunden haben sollte, dieselbe nur in so geringem Grade erfolgt sein kann, daß sie in praktischer Hinsicht ohne alle Bedeutung ist“. Es bleibt demnach nur die Annahme übrig, daß die Zunahme der Aetherextraktmenge durch Bildung freier Fettsäuren verursacht wird. Nach Benecke und Schulze ist es möglich, daß die freien Fettsäuren beim Zerfall des Kaseïns entstehen; an anderem Orte wird von denselben Verff. in ihrer Arbeit (X) darauf hingewiesen, daß freie Fettsäuren durch Spaltung der Neutralfette oder auch aus der Milchsäure (Buttersäuregärung) entstehen können. Aus den im Züricher agrikulturchemischen Laboratorium ausgeführten Untersuchungen (Weidmann, Röse und Schulze, Benecke und Schulze) folgt somit, daß im reifenden

Käse freie Fettsäuren, wenn auch nur in geringer Menge entstehen, und daß es drei verschiedene Stoffe (Parakaseïn, Fett und Milchsäure) giebt, welche das Material, aus dem die Fettsäuren gebildet werden können, darstellen.

Sichere Grundlagen zur Beantwortung der Frage, inwiefern und unter welchen Umständen jeder der drei erwähnten Stoffe (Parakaseïn, Fett und Milchsäure) zur Entstehung freier Fettsäuren Anlaß giebt, liefert die Arbeit von Benecke und Schulze nicht, indem die von diesen Gelehrten gefundenen Thatsachen in dieser Beziehung nur zu Vermutungen berechtigen. Nach Duclaux (s. o.) rührt das Auftreten feier Fettsäuren im reifenden Käse von einer Verseifung des Fettes her, die jedoch gewöhnlich nur in sehr beschränktem Maße erfolgt. Ist diese Verseifung jedoch stärker, als das gewöhnlich der Fall zu sein pflegt, so verursacht sie den eigentümlichen in alten Käsen auftretenden Geschmack und Geruch nach Buttersäure (XI, 287—288).

Das Parakaseïn erleidet während des Käsereifungsprozesses eine Reihe von chemischen Veränderungen, ganz abgesehen von der oben berührten Frage, ob aus demselben Fett gebildet wird. Wie aus dem oben Geschilderten hervorgeht, ist letztere Frage in verneinendem Sinne zu beantworten. Die Zersetzung des Kaseïns vollzieht sich im reifenden Käse in der Weise, daß dabei kein Fett abgespalten wird. Wie die Ergebnisse einer Reihe grundlegender Arbeiten beweisen, spielt die Zersetzung des Parakaseïns bei der Reifung der Käse eine ganz besonders wichtige Rolle. Es entstehen bei dieser Zersetzung Stoffe, welche von einem mehr oder weniger tiefen Zerfall des Eiweissmoleküls zeugen. Während der Reifung des Käses schreitet der Prozeß der Kaseïnzersetzung stetig vor und die komplizierteren Eiweißzersetzungsprodukte werden allmählich im Laufe der Reifung in einfachere umgewandelt. Die Folge davon ist die, daß die Menge der Eiweißzersetzungsprodukte mit der Dauer des Reifungsprozesses wächst. Zunächst entstehen aus dem Parakaseïn Stoffe, welche ihrer Beschaffenheit nach zwischen Eiweißstoffen und Peptonen stehen, wie z. B. das Kaseoglutin, ein in heißem verdünnten Weingeist löslicher Eiweißkörper, auf welchen zuerst Weidmann (VIII) aufmerksam gemacht hat und der später von Röse und Schulze (IX) gründlich untersucht worden ist. Im weiteren Verlauf der Reifung entstehen Amidosäuren (Leucin, Tyrosin, Phenylamidopropionsäure), Ammoniak u. s. w. „Man kann sich denken“ sagen Benecke und Schulze (X), daß das Parakaseïn zunächst in peptonähnliche Körper (Kaseoglutin etc.) übergeht und daß eine Spaltung der letzteren sodann zur Bildung von Amidosäuren und von Ammoniak führt“. Wie schon Weidmann (VIII) beobachtete, ist die Menge der im Käse enthaltenen Peptone (löslich in Wasser und nicht fällbar durch Metallsalzlösungen) verhältnismäßig gering. Vor kurzem versuchte Bondzyński (XXXIII) dieselbe zu bestimmen. Er fand, dass thatsächlich die Menge der im reifen Käse enthaltenen Peptone (im Sinne Kühne's) sehr gering ist und „daß der größte Peptongehalt da aufzutreten pflegt, wo die Veränderungen am tiefsten vor sich gegangen sind.“ Die löslichen Eiweißkörper der Käse sind, nach

Bondzyński (XXXIII) in die Kategorie der Vorstufen der peptonisierten Eiweißstoffe (Albumosen) zu stellen. Auch das Ammoniak ist im reifen Emmenthaler Käse nur in sehr geringer Menge enthalten (Weidmann VIII). Xanthinkörper konnten im reifen Käse weder Weidmann (VIII, 592), noch Benecke und Schulze (X) nachweisen. Die Zersetzung des Kaseïns, die wir bei der Reifung des Käses beobachten, ist durchaus nicht als ein Fäulnisprozeß zu betrachten. Bei der Eiweißfäulnis entstehen zwar bekanntlich anfangs dieselben Zersetzungsprodukte, denen wir auch bei der Käsereifung sowie bei der Pankreasverdauung begegnen, u. zw.: Albumosen, Leucin, Tyrosin, Ammoniak. Jedoch im weiteren Verlaufe der Fäulnis entstehen Oxysäuren, Phenol, Indol, Skatol, flüchtige Fettsäuren und verschiedene gasförmige Körper. Namentlich ist, nach v. Nencki, die Entstehung von Indol für die Fäulnisprozesse besonders charakteristisch. Das Kaseïn kann nun, wie jede Eiweißsubstanz, der Fäulnis anheimfallen, jedoch scheint dieser Vorgang, nach den Untersuchungen von Winternitz[1]) zu schließen, bei der Käsereifung nicht oder nur in beschränktem Maße stattzufinden. Im Emmenthaler Käse konnte Winternitz weder Indol und Skatol, noch Phenol nachweisen; Indol war nur im Münster- und im Mainzer Käse sicher nachweisbar. Der Mainzer Käse ist ein saurer Handkäse, der aus abgerahmter Milch bereitet wird, und demnach den Olmützer Quargeln ähnlich ist. Das einzige Fäulnisprodukt, welches in allen drei von Winternitz untersuchten Käsesorten (Emmenthaler, Münster und Mainzer Käse) auftrat, war die Hydroparakumarsäure (Paraoxyphenylpropionsäure), das nächste Reduktionsprodukt des Tyrosins. Die Ursache davon, daß das Kaseïn im reifenden Käse keine Neigung zur Fäulnis zeigt, beruht, nach den Untersuchungen von Winternitz, auf dem fäulnisverzögernden Einfluß des Milchzuckers. Derselbe äußert sich auch darin, daß Indol, Skatol und Phenol nicht nur in Milch allein, sondern auch in einem mit Milch versetztem, wässerigem Auszug aus Fleisch oder Pankreas nicht gebildet werden. Der fäulnisverzögernde Einfluß des Milchzuckers beruht nach Hirschler darauf, daß die rasche Spaltung welche der Milchzucker erfährt, die Bakterien vollauf in Anspruch nimmt, sodaß das Eiweiß zunächst keiner tiefgreifenden Zersetzung unterliegen kann. Nach Winternitz wäre es aber auch möglich, daß die Bakterien, welche die Kohlehydrate spalten, die Eiweißbakterien direkt schädlich beeinflussen. Auch die geringe Darmfäulnis bei Milchnahrung beruht nach Winternitz auf der fäulnishemmenden Wirkung des Milchzuckers. Vor kurzem hat Schmitz[2]) eine Herabminderung der Darmfäulnis durch Käsefütterung beobachtet. Da künstlich dargestelltes Kaseïn diese Wirkung in den von Schmitz an Hunden angestellten Fütterungsversuchen nicht zeigte, so schloß daraus Schmitz, daß neben der Eindickung des Darminhaltes, welche bei Käsefütterung stattfindet, auch der, wenn auch geringe, Milchzuckergehalt des Käses die Einschränkung der Darmfäulnis

1) Ueber das Verhalten der Milch und ihrer wichtigsten Bestandteile bei der Fäulnis. (Zeitschr. f. physiol. Chemie. XVI. 1892. p. 460—487.)

2) Zeitschrift für physiol. Chemie. Bd. XIX. p. 378.

bedingt. Ganz anders erklärte die von Winternitz beobachteten Erscheinungen Salkowski[1]). Bei länger fortgesetzter Verdauung des Kaseïns verschwindet das anfangs abgeschiedene Paranucleïn vollständig und es entsteht eine klare Lösung, in welcher der Phosphor als organische Verbindung (wahrscheinlich Paranucleïnsäure) enthalten ist. Die Paranucleïnsäure übt nun nach Salkowski vermutlich diejenigen antiseptischen Wirkungen aus, welche von Winternitz dem Milchzucker zugeschrieben werden. Es mag an dieser Stelle daran erinnert werden, daß nach den Untersuchungen von Röse und Schulze (IX, 133). sowie von Benecke und Schulze (X, 338), der größte Teil des im Emmenthaler Käse enthaltenen Nucleïns (der in Verdauungsflüssigkeiten unlöslichen Stickstoffverbindungen) während des Reifungsprozesses des Käses zersetzt wird.

Bei der Käsereifung findet, wie aus den oben geschilderten Ergebnissen einer Reihe von Arbeiten folgt, eine Kaseïnzersetzung aber keine Kaseïnfäulnis statt. Daß die Zersetzung, welche das Parakaseïn während der Reifung des Käses erleidet, eine beträchtliche ist, beweisen folgende schon von Weidmann (VIII) ermittelte Thatsachen:

1) Sinken des Gehalts an aus alkalischer Lösung durch Essigsäure fällbaren Eiweißsubstanzen;
2) Vermehrung des durch salpetrige Säure entwickelbaren Stickstoffs, des sog. Amidstickstoffs (Leucin etc.);
3) Zunahme des Ammoniakgehalts (in den Versuchen von Weidmann [VIII] von 0,01 Proz. auf 0,16 Proz. der Trockensubstanz);
4) Zunahme des Stickstoffgehaftes der von Eiweißstoffen und Peptonen befreiten Extrakte, also Zunahme der Menge der Eiweißzersetzungsprodukte (in den Versuchen von Weidmann [VIII] von 0,06 Proz. auf 1,53 Proz.);
5) Bildung von Kaseoglutin.

Was die sog. Eiweißzersetzungsprodukte (nicht eiweißartige Stickstoffverbindungen) anbelangt, so haben später Benecke und Schulze (X, 338) gefunden, daß sich dieselben im gereiften Emmenthaler Käse in recht beträchtlicher Menge vorfinden. In den von Benecke und Schulze (X) untersuchten Käsen betrug die Menge der Eiweißzersetzungsprodukte von 5,46 Proz. bis 6,91 Proz., in den von Bondzyński (XXXIII) geprüften Emmenthaler Käsen betrug dieselbe 6,99 Proz. und 6,78 Proz. Benecke und Schulze (X) bestätigten ferner die aus den Untersuchungen von Weidmann (VIII) sich ergebende Thatsache, daß der Gehalt des Käses an Eiweißzersetzungsprodukten um so größer ist, je länger der Reifungsprozeß gedauert hat. Schließlich geht aus den Untersuchungen von Weidmann (VIII) und von Benecke und Schulze (X) hervor, daß unter den Eiweißzersetzungsprodukten sich neben Leucin, Tyrosin, Ammoniak u. s. w. noch eine oder mehrere Stickstoffverbindungen vorfinden müssen, deren Stickstoffgehalt höher ist, als derjenige der im Käse enthaltenen Amidosäuren. Bondzyński (XXXIII) vermutet,

1) Ueber den Verbleib des Phosphors bei der Verdauung des Kaseïns. (Centralbl. f. d. med. Wiss. 1893. No. 23.)
Ueber das Verhalten des Kaseïns bei der Magenverdauung. (Ibid. No. 28.)

daß die fraglichen Stickstoffverbindungen in den Drechsel'schen Basen zu suchen sind. In einer jüngst erschienenen Arbeit kommt Gfeller (XLIV) auf Grund einiger Analysen von Emmenthaler Käsen zu dem Ergebnis, daß Amidsäuren, wie Leucin, Tyrosin und Phenylamidopropionsäure darin nur in ganz geringer Menge vorkommen und daß die Hauptmenge der Eiweißzersetzungsprodukte ganz anderer (vom Verf. aber nicht näher definierter) Natur ist.

Wie aus den oben geschilderten Ergebnissen der Arbeiten der Züricher Schule hervorgeht, ist die allmäliche Zersetzung des Parakaseïns einer der wichtigsten Vorgänge bei der Reifung des Käses; daneben spielt auch die Vergärung des Milchzuckers eine nicht unbedeutende Rolle. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangte auf ganz anderem Wege auch Duclaux auf Grund seiner an Kantalkäse angestellten Beobachtungen. Es muß jedoch bemerkt werden, daß Duclaux der Zersetzung des Milchzuckers nicht diejenige Bedeutung beimißt, welche aus den von Benecke und Schulze erzielten Ergebnissen hervorzugehen scheint. Nach Duclaux (XI, 260) wird das unlösliche Kaseïn während der Reifung des Käses in eine in Wasser lösliche und durch Porzellan filtrierbare Substanz (von Duclaux „Caseone" genannt) umgewandelt, welche alsdann in den Stoffwechsel der Mikroorganismen einzutreten befähigt, einer allmälichen Zersetzung unterliegt. Bei dieser Zersetzung entstehen nach und nach zunächst in Wasser lösliche Extraktivstoffe, dann in Alkohol lösliche Extraktivstoffe, Amide, Amidosäuren und Ammoniaksalze flüchtiger Fettsäuren und schließlich kohlensaures Ammonium. Die Reifung des Käses erscheint Duclaux (XI, 260) so eng mit diesen Vorgängen verknüpft, daß er in der Menge der „Caseone" sowie der weiteren Eiweißzersetzungsprodukte ein Maß des Grades, bis zu welchem die Mikroorganismen in den Reifungsprozeß des Käses eingegriffen haben, erblickt. Dementsprechend führte Duclaux in seinen Werken den Begriff „rapport de maturation" („Reifungsgrad", „Reifeverhältnis") ein. Unter dem „Reifungsgrad" versteht Duclaux (XXVII, 288) das Verhältnis der durch Porzellan filtrierbaren Substanzmenge zur Gesamtmenge des im Käse enthaltenen Kaseïns. Die oben geschilderten Ergebnisse der Untersuchungen von Duclaux sowie derjenigen von Benecke und Schulze (X) wurden durch spätere Arbeiten anderer Forscher teils bestätigt, teils ergänzt. So fand z. B. Maggiora (XXII), welcher drei Proben überreifen Stracchinokäses (Gorgonzola) analysierte und die Zusammensetzung derselben mit derjenigen von frischem und von ein Jahr altem Käse verglich, daß bei der Reifung dieses Käses im Laufe der Zeit die in ihm enthaltene Menge von Eiweißzersetzungsprodukten eine beständige Zunahme erfährt.

Durch die oben geschilderten Untersuchungen sind die chemischen Umsetzungen, welche im reifenden Käse platzgreifen, im wesentlichen klar gelegt worden. Allein es ist dabei die Frage nach den Verschiedenheiten im Verlaufe des Reifungsprozesses bei verschiedenen Käsearten unberührt geblieben. Indessen ist es a priori anzunehmen, daß in dieser Beziehung nicht unbedeutende Unterschiede im Verhalten einzelner Käsesorten obwalten, und es liegt auf der Hand, daß, ebenso wie die in verschiedenen Käsen thätige Bakterienflora

eine verschiedene ist, auch die von ihr eingeleiteten Umsetzungen verschieden sein müssen. Leider sind unsere derzeitigen Kenntnisse in dieser Beziehung viel zu gering. Auf S. 338 seiner „Principes de laiterie“ schreibt Duclaux mit Recht:

„l'importance capitale de la fermentation qui mûrit le fromage. Sur cette fermentation, nous ne savons presque rien. Nous pouvons affirmer qu'elle ne se fait pas toujours de la même manière; que les êtres qui interviennent dans telle fabrication diffèrent de ceux qui interviennent dans telle autre; que le fromage de Grana ou de Gruyère mûrit sous de tout autres influences que le fromage du Cantal ou le fromage de Brie“

v. Klenze („Handbuch der Käserei-Technik“, Bremen 1884, pag. 193) unterscheidet drei verschiedene Arten von Käsegärung: 1) diejenige der Hartkäse, 2) der Weichkäse und 3) der Sauerkäse. Einen besonderen Typus bilden ferner die unter dem Einfluß einer Schimmelpilzvegetation reifenden Käsesorten. „Je nach der Fabrikation“, sagt v. Klenze, „wird es Zwischenstufen und Verbindungen unter den drei Gärungsarten und wohl ebensoviele mehr oder weniger typisch verlaufende Gärungen geben, als man Sorten Käse kennt“. Die v. Klenze'sche Einteilung ist eine deduktive und insofern willkürlich, als wir erstens viel zu wenig die Reifungserscheinungen verschiedener Käsesorten kennen, um auf Grund der Kenntnis derselben eine Klassifizierung aufbauen zu können und zweitens, weil uns das Wesen des Unterschiedes zwischen den drei oben erwähnten Arten der Käsegärung noch viel zu wenig bekannt ist. Fleischmann[1]) versuchte den Unterschied in der Reifung der Sauerkäse und weicher Labkäse von derjenigen der harten Labkäse näher zu präzisieren. Nach Fleischmann läßt sich der Reifungsprozeß der Sauermilchkäse sowie gewisser weicher Labkäse (z. B. des Limburger Käses) „mit einem von außen nach innen fortschreitenden Fäulnisprozeß vergleichen“, „vermutlich“ sagt Fleischmann, „sind hier in erster Linie diejenigen organisierten Fermente wirksam, welche man in allen faulenden stickstoffhaltigen Materien in Menge findet“; dagegen gleicht, nach Fleischmann, der Reifungsprozeß bei den harten Labkäsen nicht einem Fäulnisprozeß, sondern vielmehr „einem in der ganzen Masse langsam und gleichartig verlaufendem Gärungsprozesse“. Nebenbei sei bemerkt, daß Benecke und Schulze (X) gefunden haben, daß die Rinde des Emmenthaler Käses ärmer an Eiweißzersetzungsprodukten ist als das Innere, woraus die Verff. den Schluß ziehen, daß die Zersetzung der Proteïnstoffe im Inneren in stärkerem Maße stattfindet als in der Rindenschicht. In Bezug auf die Menge der Eiweißzersetzungsprodukte zeigen die einzelnen Käsesorten sehr erhebliche Unterschiede von einander. Am deutlichsten wird dies durch die Untersuchungen von Duclaux veranschaulicht, welcher den „Reifungsgrad“ (s. oben) verschiedener Käsesorten bestimmte. Am niedrigsten erwies sich derselbe im Gruyère (0,14), darauf folgen: der Holländer Käse (im Mittel 0,26), Brie (im Mittel 0,31), Grana [Parmesan] (043), junger Kantalkäse (im Mittel 0,43), Gorgonzola

1) Vgl. die Arbeit von Weidmann in Landw. Jahrb. Bd. XI. 1882. p. 604.

(im Mittel 0,44), Roquefort (0,44), alter Cantalkäse (0,56), den höchsten Reifungsgrad zeigte ein sehr alter Cantalkäse (0,72). Wie aus diesen Zahlen deutlich zu ersehen ist, ist die Menge der löslichen Eiweißsubstanz in den Hartkäsen bedeutend geringer als in den Weichkäsen. Zu ganz ähnlichen Resultaten ist jüngst Bondzyński (XXXIII) gelangt. Wenn man als Maß zur Beurteilung des Reifegrades die Menge der löslich gewordenen Substanz annimmt, so müssen nach Bondzyński die Weichkäse als ein viel weiter gereiftes Produkt bezeichnet werden als die Hartkäse. Ein wichtiges Hilfsmittel zu einer schärferen Charakteristik der einzelnen Käsetypen bieten die von Bondzyński (XXXIII) neulich in die Wissenschaft eingeführten Begriffe: 1) der „Umfang" und 2) die „Tiefe" der Reifungsvorgänge. Diese zwei Begriffe sind scharf auseinander zu halten, wenn von dem Käsereifungsprozeß die Rede ist. Der „Umfang" der Reife wird durch die Menge der löslich gewordenen Eiweißsubstanz, die „Tiefe" dagegen durch die Menge der eigentlichen Eiweißzersetzungsprodukte (Differenz zwischen dem gesamten Käseextrakt und den löslichen Eiweißstoffen und löslicher Asche) bestimmt. Was den Umfang und die Tiefe der Reifungsvorgänge anbelangt, so unterscheiden sich die verschiedenen Käsearten erheblich von einander. So ist z. B. im Limburger Käse ein sehr groser Teil des in ihm enthaltenen Parakaseïns qualitativ verändert (großer Umfang), allein die Beschaffenheit des veränderten Parakaseïns steht noch sehr nahe zu derjenigen der Muttersubstanz, sodaß die Menge der eigentlichen Eiweißzersetzungsprodukte eine nur unbedeutende ist (geringe Tiefe). Im Emmenthaler Käse ist dagegen nur ein verhältnismäßig kleiner Teil des Parakaseïns qualitativ verändert (kleiner Umfang), jedoch diese Veränderung ist hier bedeutend weiter gegangen, sodaß die Menge der eigentlichen Eiweißzersetzungsprodukte eine verhältnismäßig große ist (große Tiefe). In Bezug auf den Umfang der Reife stellt Bondzyński (XXXIII) folgende absteigende Reihenfolge auf: Limburger (größter Umfang), Camembert, Roquefort, magerer Emmenthaler, fetter Emmenthaler (kleinster Umfang). In Bezug auf die Tiefe der Reife gilt, nach Bondzyński, folgende (absteigende) Reihe: fetter Emmenthaler (größte Tiefe), Roquefort, Camembert, magerer Emmenthaler, Limburger (kleinste Tiefe). Aus seinen Untersuchungen schließt Bondzyński, „daß nicht überall die gleichen Ursachen bei der Käsereifung zur Geltung kommen, daß die Reifung durch gewisse Faktoren nicht nur quantitativ (weiterer Fortschritt der Reifung), sondern auch qualitativ (vorherrschende Richtung in der Umwandlung der Bestandteile) beeinflußt werden kann". Namentlich interessant ist die aus den von Bondzyński aufgeführten Analysen sich ergebende Schlußfolgerung: daß die Reifung „kein regelmäßiger, stufenweiser, vom unlöslichen Eiweiß ab bis zum Ammoniak hinunter um sich greifender Prozeß" ist, da es zumal vorkommt, „daß sich die Reifungsvorgänge ganz einseitig äußern, indem man im löslichen Käseanteil ein enormes Vorherrschen der Eiweißstoffe bei gleichzeitiger starker Verminderung der Eiweißzersetzungsprodukte findet". Daß zwischen den einzelnen Käsearten erhebliche Unterschiede in Bezug auf die Menge der darin enthaltenen

Eiweißzersetzungsprodukte, sowie die Menge und Beschaffenheit der in denselben enthaltenen peptonartigen Stoffe bestehen, haben übrigens schon Benecke und Schulze (X) beobachtet. Während, nach Benecke und Schulze, im Emmenthaler und im Spalen-Käse in Wasser lösliche, durch Bleisalze nicht fällbare peptonartige Substanzen „fast völlig zu fehlen scheinen", finden sich solche im Greyerzer und Bellelay-Käse, im Vacherin und im Schabziger in relativ beträchtlicher Quantität vor. Diese Substanzen unterscheiden sich aber, wie Benecke und Schulze bemerken, vom eigentlichen Pepton dadurch, daß sie durch Alkohol nicht fällbar sind. Ein anderer wichtiger Unterschied zwischen Emmenthaler Käse und anderen Käsesorten besteht nach den Untersuchungen von Benecke und Schulze darin, daß die nicht nach Emmenthaler Art hergestellten Käse (Spalen-, Greyerzer, Vacherin-, Bellelay-, Glarner Schabziger-Käse) weniger Eiweißzersetzungsprodukte und mehr Proteïnstoffe enthalten, sodaß also bei ihnen und ganz besonders beim Bellelay-Käse das Parakaseïn quantitativ eine weniger tief eingreifende Zersetzung während des Reifungsprozesses erleidet. Die Reifungsvorgänge können im Käse in so verschiedener Weise verlaufen, daß nicht nur das Mengeverhältnis und die Beschaffenheit der hierbei gebildeten Produkte je nach der Käsesorte variiert, sondern es können auch in dieser Beziehung nicht unbedeutende Unterschiede in den verschiedenen Abarten derselben Sorte bestehen. Solche Unterschiede bestehen z. B. bei dem Emmenthaler Käse, je nachdem ein Fettkäse oder ein Magerkäse vorliegt. Darauf haben gleichfalls schon Benecke und Schulze hingewiesen. Aus ihren diesbezüglichen Untersuchungen geht hervor, daß der Magerkäse reicher an Proteïnstoffen und ärmer an Eiweißzersetzungsprodukten ist als Fettkäse. Ferner scheinen auch die beim Reifen des Magerkäses entstehenden Eiweißzersetzungsprodukte anders beschaffen (stickstoffreicher) zu sein, als die im Fettkäse sich bildenden. Letzthin hat Schaffer (XLII) gezeigt, dass auch kleine Unterschiede in der Fabrikation, und namentlich die Temperatur bei dem Nachwärmen (bei Emmenthaler Käse), einen nicht unbedeutenden Einfluß auf die Menge der löslichen Eiweißkörper und der Eiweißzersetzungsprodukte üben. Aus diesbezüglichen Untersuchungen von Schaffer geht hervor, daß die bei der Fabrikation wenig stark nachgewärmten Käse sich durch raschere und intensivere Reifung und insbesondere durch einen größeren Gehalt an löslichen Eiweißkörpern auszeichnen. Diese Thatsache wird nun auf Grund einer Reihe von Beobachtungen von v. Freudenreich durch das Absterben einer großen Anzahl von Mikroorganismen infolge des Nachwärmens erklärt.

Eine wesentliche Förderung unserer Kenntnisse auf dem Gebiete der Käsereifung vermag uns nur die Bakteriologie zu liefern, indem sie die Ursachen der fraglichen Erscheinungen zu Tage fördert und die Mannigfaltigkeit der Vorgänge im Lichte ihrer Abhängigkeit von konstanten biologischen Gesetzen erscheinen läßt. Um fruchtbringend zu sein, vermag sie jedoch der Chemie der Reifung, als Richtschnur und Kontrolle, nicht zu entbehren. (Schluß folgt.)

Referate.

Wortmann, J., Untersuchungen über den Einfluß des Lüftens sowie der dauernden Gärthätigkeit auf den Charakter der Hefen. (Weinbau und Weinhandel. 1895. No. 25—27.)

Da in den Laboratorien für Reinhefezucht die für die Praxis wertvollen Heferassen jahrelang in Kultur gehalten und zum Zwecke größerer Ausbeute häufig in gelüfteten Mosten herangezüchtet zu werden pflegen, war die Frage von Wichtigkeit, ob durch diese fortdauernde Gärthätigkeit einerseits oder den Prozeß des Lüftens andererseits ihre Eigenschaften auch nicht etwa verändert werden.

Verf. stellte, um diese Frage zu entscheiden, Versuche mit einer Scharzhofberger Reinhefe an. Drei Gefäße mit je 300 ccm Most wurden mit einer Platinöse Stammkultur geimpft: Gefäß A ohne weitere Behandlung bis zur Beendigung sämtlicher Versuche belassen; aus Gefäß B wurde sogleich nach Beendigung der ersten Gärung der überstehende Wein abgehoben, und auf den Hefebrei 300 ccm frischer steriler Most gegeben, nach dessen jedesmaliger Vergärung das gleiche Verfahren im ganzen 9mal wiederholt wurde. Gefäß C wurde ebenso behandelt wie B, nur wurde während der jedesmaligen Gärung ein kräftiger Luftstrom durch das Gefäß geleitet, der bei dem ganzen Versuche nur zum Zwecke des Hefeabsatzes eingestellt wurde. Die Hefe dieses Gefäßes vollendete im ganzen 13 Vergärungen.

Nach etwa 8-wöchentlicher Versuchsdauer enthielt:

Gefäß A	pro ccm	50160	Hefezellen.
„ B	„ „	2989600	
„ C	„ „	4454800	

Aus jeder dieser Kulturen wurde nun die Hefe auf ihre Gärkraft geprüft und gefunden, daß dieselbe sowohl bezüglich Gärverlauf wie Menge der gelieferten Kohlensäure innerhalb der üblichen Schwankungen vollständig gleich war. Alle drei Gefäße vollendeten die Gärung innerhalb 22, resp. 23 Tagen und ergaben 30,75, resp. 30,79, resp. 30,89 g Kohlensäure. Auch die erhaltenen Weine ließen weder durch die Analyse, deren Zahlen mitgeteilt werden, noch sonst welche Unterschiede erkennen. Aderhold (Proskau).

Behrens, J., Weitere Beiträge zur Kenntnis der Tabakspflanze. IX. Ueber die Mikroorganismen des Tabaks nach der Ernte. (Landwirtsch. Vers.-Stat. Bd. XLVI. Heft 2 und 3. p. 163—192.)

Der abgeerntete Tabak wird, bevor er zum Trocknen aufs Dach kommt, vielerorts erst zu Haufen oder Bänken zusammengesetzt, damit er „schwitzt“. Während dieses Prozesses erwärmt er sich und soll an Güte, namentlich bezüglich der Farbe, gewinnen. Die hierbei erreichten Temperaturen sind nicht bekannt. Verf. suchte sie zu ermitteln, indem er Geizblätter des Tabaks in einen dem Cohn'schen Thermophor nachgebildeten Apparat fest zusammenpackte. Das in diese Packung eingesenkte Thermometer zeigte als Maximaltemperatur

bei verschiedenen Versuchen 31,5° C, 33° C und 36° C bei 17—19° C Lufttemperatur. Diese Erwärmung ist zunächst auf die Atmung der Blätter zurückzuführen, doch sind zweifellos auch im weiteren Verlaufe Bakterien dabei beteiligt: Denn schon bei den Versuchen, in denen die Temperatur nicht über 33° C hinaus ging, und in denen die Blätter also unmöglich durch die Erwärmung abgetötet sein konnten, waren dieselben auf mehr oder weniger große Strecken hin in eine faulige Zersetzung übergegangen. Es floß aus ihnen im weiteren Verlaufe eine übelriechende Jauche heraus, in der sich kohlensaures Ammoniak nachweisen ließ und in der mehrere Bakterienarten vorhanden waren. Verf. hat dieselben nicht weiter studiert, sich vielmehr nur überzeugt, daß die meisten derselben zu den fluorescierenden zu rechnen sind und daß der Bacillus subtilis dabei ohne wesentliche Bedeutung ist. Die Bakterien müssen aërob sein, das geht aus der nach einer Umpackung des gärenden Tabaks beobachtbaren beträchtlichen Temperatursteigerung hervor.

Trotzdem diese Bakterien die Zersetzung der gärenden Blätter verursacht haben müssen, spricht sie Verf. nicht als Parasiten an, denn als Tropfen der abfließenden fauligen Flüssigkeit auf gesunde, unter Glasglocken liegende Tabaksblätter gesetzt wurden, starben die Impfstellen nicht ab (ausgenommen wenige Fälle nach dreitägigem Verbleib).

Bei direktem Trocknen des Tabaks am Blatt wirken Mikroorganismen im allgemeinen nicht mit, scheinen sogar, wenn sie auftreten, unerwünscht zu sein. Verf. beobachtete bei diesem Prozesse häufig Botrytis cinerea und Sclerotinia Libertiana, welche die als Rippenfäule und Dachbrand bezeichneten Krankheiten verursachen; daneben traten nur Penicillium glaucum und besonders häufig Aspergillus glaucus auf.

Der dachreife Tabak wird bei der Weiterverarbeitung noch einmal in Haufen oder Stöcke zusammengesetzt, in denen wiederum eine Temperatursteigerung beobachtet wird, welche Suchsland bis zu 61° C gehen sah, Verf. indeß bei seinen kleinen Versuchen im Thermophor begreiflicherweise nur bis zu 34° C anwachsen sah. Diese Erwärmung kann natürlich nur ein durch Bakterien verursachter Vorgang sein, mit deren Natur sich Verf. indeß nicht weiter beschäftigte, da ihr Studium gegenwärtig von anderen Forschern (Suchsland und Koch) eifrig betrieben wird. Nur einen der Monilia candida nahestehenden und aus diesen Gärungen isolierten Organismus untersuchte Verf. genauer. Er hält denselben für möglicherweise identisch mit einem von Davalos als „Schimmel" der Tabakpflanze beschriebenen Pilze. Verf.'s Organismus produzierte neben weißen bis fleischfarbenen Hyphen hefeähnliche Sproßverbände, vermag eine schwache und langsame Alkoholgärung sowohl im Rohrzucker (ohne diesen zu invertieren) wie in Glycose zu erregen und verflüssigt Gelatine. Durch letztere Eigenschaft allein scheint er sich nach Verf. von Monilia candida Plaut. zu unterscheiden. In seiner Begleitung wurde eine aber bei weitem nicht so reichlich vorhandene ellipsoidische Rosahefe gefunden, deren Einfluß auf den Tabak bedeutungslos zu sein scheint.

Der zur Bereitung des Schnupftabaks bestimmte Tabak wird in

der Regel noch weiteren Gärungsprozessen unterworfen. Die dafür bestimmten Blätter werden zuerst mit einer aus verschiedenen Ingredienzien zusammengesetzten Sauce imprägniert, von deren Bestandteilen neben Zucker, ätherischen Oelen etc. besonders alkoholische Flüssigkeiten wie Wein oder Franzbranntwein und vor allem auch Weinhefe das Interesse erregen. Verf. kam dadurch auf den Gedanken, daß bei den in den saucierten Tabaken vor sich gehenden Gärungen auch die alkoholische Gärung in Betracht kommen möchte. Die Tabake werden zum Zwecke dieser Gärungen zunächst auf Haufen geschichtet und vor zu starker Erwärmung bewahrt und dann, wenigstens bei feineren Schnupftabaksorten, in leinene Tücher zu spindelförmigen Packeten, sogenannten „Carotten“, zusammengeschnürt und gepreßt. In einer solchen von der Firma Lotzbeck in Lahr zur Verfügung gestellten Carotte konnte Verf. in der That geringe Mengen Alkohol neben Spuren von Fehling's Lösung reduzierenden Substanzen nachweisen und auch einen gewissen Glyceringehalt wahrscheinlich machen. Von Mikroorganismen ließen sich neben Schimmelpilzen auf Gelatineplatten aus der Carotte nur einige Bakterien isolieren. Als dagegen eine geringe Menge des unter allen Kuratelen dem Carotteninnern entnommenen Tabaks in 10 Proz. Rohrzuckerlösung übertragen wurde, trat bald Gärung ein, die von einem Mucor-Mycel resp. dessen hefeähnlichen Zerfallsprodukten veranlaßt schien. Da Verf. auch in gepulvertem, mit Glycose und Salmiak gemischten und fest in ein Glas gedrücktem Tabak dieselbe Vegetation bei jeder Versuchswiederholung erhielt, und größere Mengen Alkohol in dem Destillat solcher Kulturen nachweisen konnte, steht er nicht an, eine alkoholische Gärung in allen mit zuckerhaltigen Flüssigkeiten saucierten Tabaken anzunehmen.

Derselben Mitteilung ist sub X ein Abschnitt „über die Mittel zur Hebung der Qualität des Tabaks“ angefügt, die indessen für die Leser dieser Zeitschrift kein Interesse haben dürften. Verf. bespricht nur den Wert der Kreuzungen verschiedener Tabakssorten, die Art der Laubbehandlung und Düngung als wesentliche Faktoren für jenes Ziel.

Aderhold (Proskau).

Schutzimpfung, künstliche Infektionskrankheiten, Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Lindner, P., Die Weinsäurekur für sarcinahaltige Zeuge. (Wochenschr. f. Brauerei. 1895. p. 316.)

Selbst in Betrieben, welche mit Reinhefe arbeiten und daneben auf peinlichste Sauberkeit sehen, pflegt sich dieser Organismus leicht einzunisten. Gerade wenn die Hefe die schönsten Erscheinungen giebt und noch frei von wilden Hefen ist, beginnen sich diese Organismen manchmal unter dem Mikroskope zu zeigen.

In der Weinsäure ist ein vorzügliches Mittel gegen solche Kalamitäten gegeben.

Vor ca. 7 Jahren hat v. Huth dasselbe Mittel empfohlen. Da aber durch die Weinsäure die wilde Hefe begünstigt, die normale aber geschwächt wird, hat man die Verwendung derselben vermieden. Es ist aber etwas anderes, eine Hefe wiederholt in weinsauren Zuckerlösungen gären zu lassen und eine Hefe unter weinsaurem Wasser, in dem sie gar nicht zur Vergärung kommt, einige Stunden in der Hefenwanne stehen zu lassen. Wenn eine Bottichhefe fast ganz frei von wilden Hefen ist, was kann da die Weinsäure viel die wilde Hefe begünstigen? Enthält dagegen der Satz viel wilde Hefe beigemengt, dann ist von einer weiteren Verwendung überhaupt abzuraten.

v. Huth schlägt vor (Amerik. Bierbrauer. 1888. No. 8):

„Für jedes Kilo breiige oder dünnflüssige Hefe benutze man 6 g Weinsäure. Nach tüchtigem Umrühren lasse man 6—12 Stunden ruhig stehen und gebe dann das Ganze zur Würze in den Bottich."

Zu wenig Säure anzuwenden, ist ganz falsch, es kann Miliarsarcinose eintreten.

Ob die Säurekur Erfolg gehabt hat, kann entweder durch Anfertigung eines Vaselin-Einschlußpräparates nach 5—8 Tagen entschieden werden oder man wird durch einfache Färbung des Hefepräparates mit Methylenblau zu erkennen suchen, ob die Sarcinen durch Weinsäure getötet sind; sie sind dann intensiv blau gefärbt. Versuche mit Weinsäure in größeren Brauereien gaben günstige Resultate.

Die Weinsäure verteilte auch die Hefeflocken und veranlaßte bessere Gärungen. Eine Weinsäurekur dürfte daher auch bei Abwesenheit von Sarcina zeitweilig zu empfehlen sein, wenn die Hefe bei zunehmender Verklebung der Zellen Flocken bildet, die zu einem zu schnellen Absitzen der Hefe führt. Oft ist faulig riechende Hefe nach der Weinsäurekur noch brauchbar.

„Eines aber muß bei all diesen Dingen nicht außer Acht gelassen werden, daß man nicht einfach nach dem Rezepte arbeitet, sondern nur auf Grund des mikroskopischen Befundes der Hefe."

Hoffmann (Berlin).

Carter, A. H., Sterilisation of milk. (The Lancet. 1895. April 20.)

Verf. ist Anhänger der Pasteurisierung, da die Siedehitze in der Milch chemische Veränderungen hervorruft, die die Verdaulichkeit derselben etwas herabsetzen, was nicht viel zu bedeuten hat, wenn die Milch mehr als Arzneimittel verwendet wird, dagegen sehr ins Gewicht fällt, wenn es sich um ein tägliches Nahrungsmittel handelt. Die amerikanischen Aerzte haben mit der pasteurisierten Milch ausgezeichnete Erfolge gehabt. Seit $^1/_2$ Jahre wird in City Infirmary und Queen's Hospital zu Birmingham der Waldstein'sche Apparat zum Pasteurisieren benutzt, der nur $12^1/_2$ sh. kostet, und in dem die Milch in den Flaschen einer Temperatur von 75° C unterworfen wird. Der Apparat besteht aus einem Wasserbehälter, in den das Gestell mit den Milchflaschen eingesetzt wird und wo das Wasser bis zum Niveau der Milch reicht. Dieser Behälter wird nun in einen größeren eingesetzt, von dessen Wasser er durch einen Luftraum getrennt bleibt. Das Wasser wird siedend in beide Behälter gefüllt,

dann das Gestell mit den Flaschen eingesetzt, der Deckel geschlossen und das äußere Wasser $1^1/_2$ Stunde lang im Sieden erhalten. Dabei nimmt das innere Wasser die Temperatur von 75° an, während die Milch in den Flaschen nie über 72° noch unter 70° geht. Nach $1^1/_2$ Stunde wird das Gestell mit den Flaschen herausgenommen, in kaltes Wasser getaucht und darin bis zum Verbrauche gelassen. Damit wird die Fettabscheidung und das etwaige Aufkeimen von Sporen verhütet. Solche Milch scheint nach der halbjährigen Erfahrung in genannten Krankenhäusern verdaulicher zu sein als die rohe.

Sentiñon (Barcelona).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Dr. Wilhelm Windisch.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Clautrian, C., Étude chimique du Glycogène chez les champignons et les levures. Bruxelles 1895.

Duclaux, E., L'oeuvre de Pasteur. (Moniteur industriel. 1895. No. 49.)

— —, Nutrition sans bactéries. (Annales de l'Institut Pasteur. Année IX. 1895. No. 12. p. 896.)

Marshal Ward, H., A false bacterium. (Annales of Botany. Vol. IX. 1895. No. 36. p. 657.)

Martin, H., Pasteur et son oeuvre. (Études réligieuses, philosophiques, historiques et littéraires. 1895. 15 nov.)

Möller, Alfred, Protobasidiomyceten. gr. 8°. 179 p. 6 Taf. G. Fischer, Jena 1895.

Pieters, A. J., The history of the Uredineae. (Asa Gray Bulletin. III. 1895. p. 8—10.)

Renault, Communication sur quelques bactéries des temps primaires. (Autun 1895.)

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Blumenthal, Ferdinand, Ueber den Einfluß des Alkalis auf den Stoffwechsel der Mikroben. (Zeitschrift für klinische Medizin. Bd. XXVIII. 1895. p. 222—255.)

Hansen, Emil Chr., Experimental Studies on the Variation of Yeast-cells. Read before the Botanical Section of the British Association, Ipswich, September 13, 1895. (Annales of Botany. Vol. IX. 1895 No. 36. p. 549.)

Howard, L. O., Revision of the Aphelininae of North America, a subfamily of hymenopterous parasites of the family Chalcididae. (U. S. Departm. of Agricult.) 8°. 44 pp. Washington 1895.

Marshall Ward, H., The formation of bacterial colonies. (Annales of Botany. Vol. IX. 1895. No. 36. p. 613.)

Vandam, Léon, Étude sur un bacille visqueux des bières anglaises. (Bulletin de Association belge des Chimistes. Année IX. 1895. No. 8. p. 245.)

Wager, Harold, Preliminary Note upon the structure of bacterial cells. (Annales of Botany. Vol. IX. 1895. No. 36. p. 659.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Behrens, J., Ueber die Wirkung des Kupfers auf das Gedeihen der Rebe und die Gärung. (Wochenschrift des landw. Vereins f. d. Großherzogtum Baden. 1895. No. 27.)

Omeliansky, V., La fermentation de la cellulose. (Compt. rend. le l'Acad. des sciences de St. Petersbourg. Bd. CXXI. 1895. p. 653—655.)

Molkerei.

P. O., Zur Frage der Rahmsäuerung. (Milchzeitung. Jahrg. XXIV. 1895. No. 52. p. 849.

Brauerei.

Häussermann, A., Ueber das Aufkräusen und die Behandlung des Bieres im Spannfaß. (American Brewers' Review. Jahrg. IX. 1895. No. 6. p. 224.)
Metzler, August, J., Künstliche Reinzucht vs. natürliche Reinzucht der Hefe. (American Brewers' Review. Jahrg. IX. 1895. No. 6. p. 217.)
Prior, E., Ueber verletzte Gerstenkörner, hitziges Wachsen und Schimmelbildung derselben. (Byerisches Brauer-Journal. 1895. No. 50)

Weinbereitung.

— **Z.**, Zur Reinhefevergärung. (Die Weinlaube. Jahrg. XXVII. 1895. No. 52. p. 615.)

Spiritusfabrikation.

Stenglein, Ermler und Schmidt, Herstellung milchsaurer Hefewürze. (Alkohol. Jahrg. VI 1896. No. 1. p. 3.)

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Starck, von, Barlow'sche Krankheit und sterilisierte Milch. (Münch. med. Wochenschrift. 1895. No. 42.)

Luft, Wasser, Boden.

Frankland, P., The bacterial purification of water. (Journ. of the Sanit. instit. 1895. Okt. p. 383—397.)
Ingria, V. E., Ancora sullo studio batteriologico dell' acqua di Seltz. (Morgagni. 1895. No. 9. p. 614—617.)
Oetvös, J., Das Trinkwasser der Hauptstadt und die Cholera. (Egészég. 1895. No. 5.) [Ungarisch.]
Woltering, P. und **Sassen, A.**, Ueber die Reinigung von eisenhaltigem Grundwasser. (Nederl. Tijdschr. Pharm. Bd. VII. 1895. p. 304—319.)

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Aducco, A., Circa il punteruolo o fitonomo dei trifogli. (L'Italia agricola. Bd. XXXI. p. 318—320.)
Alleschen, Andreas, Zwei gefährliche Parasiten der Gattung Codiaeum. (Zeitschrift f. Pflanzenkrankheiten. Bd. V. 1895. p. 276—277.)
Bailey, W. Whitman, Compound leaves in Rubus odoratus. (Bulletin of the Torrey Botanical Club. Vol. XXII. 1895. p. 471.)
Baroni, E., e **Del Guercio, G.**, Sulla infezione prodotta nelle fragole della Sphaerella Fragariae Sacc. (Nuovo Giornale botan. italiano. N. Ser. Vol. I. 1894. p. 208—216.)
Berlese, A. N., Sostanze anticrittogamiche. Bollett. di Entomol. agr. e Patol. veget. I. p. 171—173.)
Caruso, G., Esperienze sui mezzi per combattere il vaiulo dell' olivo e la ruggine o seccume delle foglie digelso. (L'agricoltura italiana. Bd. XX. p. 629—632)
Contro la fillosera. (Bullett. d. Soc. toscana di orticultura. Bd. XIX. p. 231—232.)
Crié, L., Rapport sur la maladie des châtaigniers dans les Cévennes. (Extr. du Bulletin du ministère de l'agriculture. 1895.) 8°. 13 pp. Paris. [Impr. nationale.] 1895.
Cuboni, G., Sulla causa della fasciazione nello Spartium junceum e nel Sarothamus scoparius. (Bullet. de Soc. botan. italiana. 1894. p. 281—282.)
— —, La comparsa della Cecidomyia dei structor nell' Agro romano. (Bollett. di Notizie agrarie. Bd. XVI. 2 Sem. p. 143—144.)
Dobeneck, von, Ein unbekannter Rhynchote auf Sinapis alba. Mit Tafel. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. V. 1895. Heft VI. p. 324.)
Ferrari, P., Contro la fillossera. (l'Agricoltura italiana. Bd. XX. p. 633—636.)
Fischer, Ed., Weitere Infektionsversuche mit Rostpilzen. (Mitteilungen der naturforschenden Gesellschaft in Berlin. 1895. Mai.)
Hanamann, Josef, Ueber die Ursachen der Gelbsucht der Bäumchen, welche in einer Baumschule und in einem Schloßgarten herrschte. (Journal für Landwirtschaft. Jahrg. XLIII. 1895. Heft 4. p. 369.)
Klebahn, K., Bericht über eine Anzahl durch Insekten in Kanada hervorgerufene Schädigungen von Kulturpflanzen. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. V. 1895. p. 295—298.)
—, **H.**, Kulturversuche mit heteröcischen Rostpilzen (Schluß). (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. V. 1895. Heft 6. p. 327.)

Martini, S., Completa vittoria sulla tignuola della vite. (Bollett. di Entomologia agraria e Patologia vegetale. Bd. I. p. 173—174.)

Montanari, M., Alcune esperienze antiperonosporiche sulle putate in provincia di Caserta nel 1894. (Le Stazione sperimentali agrarie italiane. Bd. XXVII. 1895. p. 251—260.)

Müntz, A., La végétation des vignes traitées par la submersion. (Compt. rend. des séances de l'Académie des scienses de Paris. Tome CXIX. p. 116—119.)

Nalepa, A., Beiträge zur Kenntnis der Gattungen Phytoptus Duj. und Monaulax Nal. (Sep.-Abdr. aus Denkschriften der k. Akademie der Wissenschaften in Wien. 1895). 4⁰. 16 pp. Mit 4 Tafeln. Wien (C. Gerold's Sohn). 1895. 2,70 M.

Neuere, in den östlichen Staaten Nord-Amerikas aufgetretene Pflanzenkrankheiten. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. V. 1895. Heft 6. p. 336.)

N. N., Insetti che attaccano il grano ed altri semi secchi nei granai, e modi di liberarsene. (Bollett. di Entomologia agrar. e patolog. vegetale. Bd. I. p. 107—115. Mit 1 Tafel.)

Pammel, H., Notes on some Fungi common during the season of 1892 at Ames Jowa. (American Association for the Advancement of Science. Agricultural Science. Vol. III No. 1. p. 20—27.)

Passerini, N., Contro la Cochylis. (Bullett. della Soc. toscana di Orticult. Bd. XIX. p. 205—206.)

Peglion, V., Esperienze contro le tignuole della vite. (Bollett. di Entomol. agraria e Patologia vegetale. Bd. I. p. 124—131, 139—144.)

Perroni-Paladini, Effetti della cura estiva colla pitteleina contro le cocciniglie degli Agrumi. (Bollett. di Entomologia agraria e Patologia vegetale. Bd. I. p. 193—197.)

Reinbach, A., Durch Wanzen verursachte Schädigung des Cacao im Küstenlande von Ecuador (Zeitschr. für Pflanzenkrankheiten. Bd. V. 1895. Heft 6. p. 231.)

Renesse, A. von, und Karus, L., Krankheiten der landwirtschaftlichen Kulturgewächse und deren Verhütung. (Fühling's Landwirtschaftliche Zeitung. Jahrg. XLV. 1896. Heft 1. p. 21.)

Ritzema Bos, J., Kurze Mitteilungen über Pflanzenkrankheiten und Beschädigungen in den Niederlanden im Jahre 1894 (Schluß). (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. V. 1895 Heft 6. p. 342.)

Rostrup, E., Mykologiske Meddelelser (IV.). Spredte Jagttagelser fra 1892. (Botanisk Tidsskrift. Bd. XIX. Heft 1. Kjöbenhavn 1894. p. 36—51.)

Sajo, Karl, Bericht über die in den letzten Jahren in Ungarn aufgetretenen Insektenschäden (Schluß). (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. Bd. V. 1895. Heft 6. p. 359.)

Theulier fils, Henri, Du rôle de la chlorophylle dans les plantes et des remèdes à apporter à la chlorose. 8⁰. 47 pp. Paris (libr. J. B. Baillière & fils) 1895.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Abel, Rudolf, Ein Halter für Objektträger und Deckgläschen. (Centralbl. f. Bakteriologie und Parasitenkunde. Erste Abteilung. Bd. XVIII. 1895. No. 25. p. 782.)

Burri, K., Ueber einen neuen Sterilisator. (Centralbl. f. Bakteriologie und Parasitenkunde. Bd. XVIII. 1895. No. 25. p. 783.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

1896. Centralblatt Bd. II. No 1.
für Bakteriologie und Parasitenkunde.
II. Abteilung.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Prof. Dr M. W. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg
herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

II. Band. Jena, den 15. Februar 1896. **No. 2/3.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige ***Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original-Mittheilungen.

Ueber Pilze, welche Uebergangsformen zwischen Schimmel und Saccharomyceshefe bilden, und die in der Brauereiwürze auftreten.

Von

Alfred Jörgensen,

Direktor des Gärungsphysiologischen Laboratoriums zu Kopenhagen.

Unter den Pilzen, welche sprossende Zellen mit endogenen Neubildungen hervorbringen, giebt es eine Gruppe, von welcher ich im verflossenen Sommer bei meinen Studien über die in der Natur auftretenden Pilzvegetationen mehrmals Beispiele getroffen habe, und

welche ein ganz besonderes Interesse darbieten, weil diese Pilze — jedenfalls in den Entwickelungsreihen, die ich bisher angestellt habe — eine Uebergangsgruppe in dem Sinne bilden, daß, während unter gewissen Umständen das Schimmelstadium vollständig zurücktritt und der Pilz nur eine Hefevegetation entwickelt, es unter anderen Verhältnissen möglich ist, fortdauernd während der ganzen Entwickelung das Schimmelstadium gleichzeitig mit dem Hefestadium hervorzurufen.

Bei den übrigen bis jetzt bekannten Schimmelpilzen, welche diese eigentümliche Umwandlung gezeigt haben, hat es sich bei meinen Versuchen stets herausgestellt, daß das Mycel abstirbt, wenn die endogenen Sporen sich vollständig entwickelt haben; es tritt dann eine Hefevegetation auf, und es war mir bisher nicht möglich, ein vollständiges Zurückkehren zur Schimmelform zu beobachten[1]).

Die zur obengenannten Gruppe gehörenden Pilze entwickeln eine schöne, weiße Schimmelvegetation, welche sich vom Substrate erhebt und sowohl Bifurkationen als echte Verzweigungen zeigt. Die Fruktifikation ist auf der ersten Stufe der Entwickelung eine oïdiumartige, und viele Individuen bleiben auf dieser Stufe stehen. Bei anderen Individuen geht dagegen die Formenentwickelung weiter, indem die Oïdiumglieder, bevor oder nachdem sie sich von einander getrennt haben, birnenförmige, ovale oder kugelige Knospen abschnüren. Diese Zellen können sich in verschiedener Weise verhalten, indem sie entweder wie Schimmelkonidien auskeimen oder aber die Entwickelung durch immer neue sprossende Generationen fortsetzen.

Bringt man eine absolut reine Vegetation des Schimmelpilzes auf Hefewasser in Freudenreich'schen oder Chamberland'schen Kolben über, so bildet sich zuerst eine Bodensatzvegetation, die nach Verlauf einiger Tage ausschließlich aus kugeligen Hefezellen mit kräftig lichtbrechendem Inhalte besteht; das Mycel ist nicht entwickelt. Führt man dagegen die Kultur auf Dextrose-Hefewasser in ähnlichen Kolben über, dann entwickeln sich sowohl Mycel wie Hefevegetation und bilden eine kräftige Haut auf der Oberfläche der Flüssigkeit; sowohl Mycel wie Hefezellen nehmen eine bedeutende Größe an und bewahren diese während des weiteren Verlaufs ihres Wachstums.

Ganz anders verhält sich aber die Vegetation, wenn sie auf gehopfte Würze in Pasteur'schen Kolben bei Temperaturen um 20° C geführt wird. Sie bildet dann schnell eine feine, rötlich-graue Haut auf der Oberfläche der Flüssigkeit; schon nach Verlauf von ein paar Tagen ist das Mycel sehr stark zurückgetreten; die Entwickelung setzt sich unaufhörlich fort, und die Flüssigkeit ist immer trübe durch die unausgesetzt herabfallenden Zellen, welche durch fort-

1) Die von mir beobachteten, von Dematium-ähnlichen Schimmelvegetationen entwickelten Saccharomycesformen haben in den Häuten eine Neigung zu einer dematiumartigen Entwickelung gezeigt, wie dies auch von Hansen bei verschiedenen Hefearten wahrgenommen wurde; es war mir aber bisher nicht möglich, eine wirkliche Schimmelbildung mit echter Verzweigung und mit Querwänden wie bei den Stammformen zu entdecken. Möglicherweise wird dies dereinst gelingen; diese morphologischen und physiologischen Umbildungen erfordern bekanntlich viel Zeit.

Dematiumartige Schimmelformen mit endogenen Sporenbildungen wurden ebenfalls von Just Chr. Holm, P. Lindner, Brusch und Bendixen beobachtet.

währende Neubildungen in der Haut ersetzt werden. Nach Verlauf von ungefähr einer Woche besteht die Haut ausschließlich aus ellipsoïden oder pastorianen sprossenden Zellen. Nach und nach tritt in dieser Vegetation eine Anzahl von Zellen auf, welche sehr stark lichtbrechend und mit derben Wänden versehen sind; sie erinnern an die von Will beschriebenen Dauerzellen bei den von ihm untersuchten Kulturheferassen. Gleichzeitig, während der fortdauernden Verjüngung der Haut, nehmen die Zellen nach und nach an Größe ab.

Die Vegetation bringt in der gehopften Würze einen ausgeprägt fauligen Geruch hervor.

Führt man diese Hefevegetation auf festes Substrat zurück, so tritt wieder der ursprüngliche Entwickelungsgang ein, indem einige Zellen die oben beschriebene Schimmelvegetation bilden, während andere sprossen. Impft man dagegen eine Spur der Haut in einen neuen Pasteur'schen Kolben mit gehopfter Würze ein, dann zeigt sich in den ersten Tagen ein Anlauf zur Fadenbildung; diese verschwindet jedoch schnell, und die Vegetation setzt sich ununterbrochen als Hefevegetation fort, sowohl in der Haut wie im Bodensatze [1]).

Impft man nun eine solche Hefevegetation, welche ein gewisses Alter erreicht hat, auf feuchte Gypsblöcke über, dann tritt der Pilz in eine neue Entwickelungsstufe ein, indem eine Umbildung innerhalb der Zellen erfolgt; das Mycel entwickelt sich nicht, dagegen treten nach einigen Tagen aus gewissen Zellen eine oder zwei Zellen aus; ab und zu kann man eine Sprossung der austretenden Zellen beobachten. Diese austretenden Zellen können sehr verschiedene Gestalten haben; sie sind kugelig, oval, haubenförmig oder ganz unregelmäßig in der Form. In einigen Fällen kann man eine Spaltung der Membran der Mutterzelle beobachten, in anderen liegt die Tochterzelle frei in der Mutterzelle. Ohne Zweifel sind die Mutterzellen mit den von Will beschriebenen Dauerzellen bei den Saccharomyceten analog. In den übrigen Hefezellen wurden diese endogenen Bildungen nicht beobachtet. Die Formen der austretenden Zellen erinnern an die Sporen bei derjenigen Gruppe von Saccharomyceten, zu welcher Sacch. membranaefaciens gehört. Bekanntlich haben die Sporen bei gewissen unter diesen Arten auch die Neigung, sehr schnell aus der Mutterzelle herauszutreten.

Auch in der Hautbildung auf Dextrose-Hefewasser in Freudenreich'schen Kolben kann man ein Austreten von Zellen beobachten. Die Formen sind hier weniger unregelmäßig.

Bei den bis jetzt ausgeführten Untersuchungen hat diese neue Vegetation sich in derselben Weise verhalten wie die Oïdiumvegetation: Auf festem Substrat hat sie Schimmel und Hefezellen entwickelt; in gehopfter Würze in Pasteur'schen Kolben gab sie ununterbrochen Hefebildung bei allmählicher Abnahme der Größe der Zellen.

1) Zu dieser Gruppe von Pilzen gehört ohne Zweifel das von Lindner vorläufig beschriebene Oïdium pullulans.

Diese Pilzgruppe bietet nicht nur großes Interesse wegen ihres eigentümlichen Entwickelungsganges, die Kenntnis von den hierher gehörigen Pilzen ist auch von hervorragender praktischer Bedeutung, indem sie, nach vergleichenden Versuchen mit einer großen Reihe von Flüssigkeiten, sich mit ganz besonderer Kraft in der gehopften Würze entwickeln.

In den letzten Jahren habe ich, beim Arbeiten im analytischen Laboratorium, häufig kräftige Entwickelungen von Heferassen mit unregelmäßig geformten, schnell austretenden Sporen beobachtet, sowohl im untergärigen Lagerbiere als auch in englischen Biersorten; diese letzteren boten ein bedeutendes Interesse, weil es hier möglich war, mit Sicherheit festzustellen, daß diese Hefearten eine ausgeprägte Hefetrübung erregten und dem Biere einen unangenehmen Geruch gaben. Diese Gruppe von Hefen zeigt auch häufig Oïdium-ähnliche Zellen, und es muß mithin, nach den oben mitgeteilten Beobachtungen, bei Analysen von Luft und Wasser in den Brauereien auf solche Schimmelvegetationen wie die oben beschriebenen Rücksicht genommen werden [1]).

Das Gleiche hat für die von mir behandelten Dematium-artigen echten Schimmelpilze Gültigkeit. Im Laufe des Jahres ist es hier im Laboratorium gelungen, drei Mal solche Fälle nachzuweisen, wo Pilze von dieser Gruppe auf der gehopften Würze endogene Sporen bildeten, welche eine echte Saccharomyceshefevegetation entwickelten.

Der Nachweis dieser zwei Gruppen von Schimmelpilzen muß demnach künftighin als Glied in die gärungstechnische Analyse von Luft, Wasser und Bier eingehen, indem die Möglichkeit immer vorliegt, daß sie sich unter günstigen Bedingungen in Hefevegetationen umbilden, welche einen nachteiligen Einfluß auf das Produkt ausüben können.

Die oben mitgeteilten Verhältnisse werden in den vom Laboratorium herausgegebenen Berichte ausführlich behandelt werden.

Kopenhagen, im Januar 1896.

Eine Zuckerrohrkrankheit, verursacht durch Marasmius Sacchari n. sp.

Von

Direktor J. H. Wakker.

Auf den folgenden Seiten wünsche ich einen vorläufigen Bericht von einigen Krankheitsfällen zu geben, die ich in verschiedenen Zuckerfabriken beobachtet habe und deren Ursache zu ermitteln mir

1) Eine der hierher gehörigen Schimmelformen wurde von den Herren Laboratoriumsvorstand Rafn und Assistent Brusch bei einer Wasseranalyse für eine dänische Brauerei nachgewiesen.

gelungen ist. Eingehende Mitteilungen über diesen Gegenstand, der durch die vorliegende Untersuchung noch nicht erschöpft erscheint, behalte ich mir eventuell für später vor.

Das Eigenartige der Krankheit besteht darin, daß sie sich auf zwei verschiedene Weisen bemerkbar macht, und zwar zur selben Zeit des Jahres. Es scheint mir wünschenswert, die zwei Erscheinungen zunächst getrennt zu beschreiben, um hierauf zu versuchen, den vermutlichen Zusammenhang zwischen beiden klar zu machen. Es sei noch vorausgeschickt, daß sich die Krankheitserscheinungen in erster Linie in Treibbeeten von einem gewissen Alter zeigen. In zweiter Linie treten sie in alten Rohrfeldern auf, und zwar während oder kurz vor der Ernte. Das Erkranken der alten Rohrfelder scheint mir von größerer Tragweite zu sein, als dasjenige der Treibbeete.

I. Die Krankheitserscheinungen in den Treibbeeten[1]).

Sind Treibbeete von der Krankheit befallen, so kann man dies an folgenden Erscheinungen wahrnehmen:

Erstens ist die Zahl der auslaufenden Augen immer viel geringer als in gesunden Treibbeeten. Da das Nichtauslaufen der Augen aber auch durch eine Anzahl anderer Umstände verursacht werden kann, z. B. Alter der Stecklinge, Insektenfraß u. s. w., so kann man dies nicht zu den charakteristischen Merkmalen der Krankheit rechnen.

Zweitens, und dies ist charakteristischer, sieht man, wie die bereits ausgelaufenen Augen ein krankhaftes Aussehen anzunehmen beginnen, gerade zu der Zeit, wo die Stecklinge übergepflanzt werden sollten, also etwa drei Wochen nach der Anlage der Treibbeete.

Am meisten fällt dabei in die Augen, daß die jüngeren Blätter zuerst, oft aber auch schon die älteren von der Spitze aus abzusterben beginnen und bald vertrocknen, indem sie eine hell-strohgelbe Farbe annehmen, ohne Flecken oder augenfällig anders gefärbte Ränder zu zeigen. Solche Augen sterben gewöhnlich nicht ab, führen aber ein kränkelndes Dasein und können sogar übergepflanzt werden. (Wie verderbenbringend dies ist, werden wir erst später sehen.)

Zwischen den zwei angeführten Extremen sind, wie zu erwarten war, allerlei Uebergänge zu finden. Vor allem konstatierte ich hier und da Augen, bei denen nur die Knospenschuppen ausgewachsen waren, ohne daß sich ein Blatt entwickelt hätte.

Im Allgemeinen stimmen die oberirdisch wahrnehmbaren Erscheinungen bis auf einen gewissen Grad überein mit denjenigen, die bei Termitenfraß auftreten. Untersucht man aber die unterirdischen Teile der Pflanzen, so ergiebt sich, daß von dem leicht zu erkennenden Termitenfraß nichts zu bemerken ist, wenn wir es wirklich mit der in Frage stehenden Krankheit zu thun haben.

1) Oefters wird aus verschiedenen Gründen, deren Auseinandersetzung hier zu weit führen würde, auf Java der Bibit nicht direkt an Ort und Stelle gepflanzt, sondern vorher einige Zeit (gewöhnlich ungefähr 40 Tage) zum Austreiben dicht neben einander gelegt. Solche Stellen, wo dies geschieht, nennt man mit dem javanischen Worte „Dedderan"; dieser Ausdruck ist hier mit „Treibbeet" übersetzt. Während dieser Zeit entwickeln sich Augen und Wurzeln. Erstere werden nachher durch Zerschneiden des Stengels von einander getrennt und mit dem Stengelstück in den vorher bearbeiteten Acker zur weiteren Entwickelung ausgepflanzt.

Die Stecklinge, von denen bei Termitenfraß nicht viel mehr als die Oberhaut und hier und da ein Stückchen der Knoten übrig bleibt, sind anscheinend normal und nur ein Bündel schneeweißer, seideglänzender Pilzfäden, das sich über den Steckling hinzieht, weist auf etwas Verdächtiges hin.

Schneidet man die Stecklinge der Länge nach entzwei, so zeigen sie im Innern oft eine mit Pilzfäden erfüllte Höhle oder rote Flecken in den Knoten. Die rote Farbe kann aber auch fehlen. Nie sah ich rote Flecken in den Internodien selbst, wie beim roten Rotz, oder auf eine bestimmte Länge rotgefärbte Gefäßbündel in den Knoten, wie bei Sereh.

Die Wurzelbildung ist immer mehr oder weniger schwächlich und die Stecklinge sind an den Schnittflächen verfault.

Wie aus dem vorstehenden hervorgeht, ist das Wesen der Krankheit sehr wenig ausgeprägt, was ich für den Hauptgrund halte, daß sie, obschon sie sehr schädlich werden kann, bis heute nicht nur nicht beschrieben war, sondern, wie ich vermute, vielen Pflanzern als solche selbst ganz unbekannt ist. Daß man ihr aber, abgesehen vom Verluste an Pflanzenmaterial, nicht zu wenig Bedeutung beimessen darf, wird sich aus dem folgenden Abschnitte ergeben.

II. Das plötzliche Absterben der alten Anpflanzungen.

In einer Anpflanzung, welche am 1. Dezember mit Treibbeetstecklingen, die von Malang bezogen waren, bepflanzt war, begannen Ende August 1893 die obersten Blätter abzusterben und das Wachstum hörte an vielen Stöcken plötzlich auf. Die Anpflanzung war übrigens gut gelungen und zeigte so gut wie kein Sereh.

Verschiedene Stöcke konnten fast ohne Anstrengung aus dem Boden gezogen werden. Sie zeigten auf dem Längsschnitt in erster Linie die gewöhnlichen Erscheinungen des Ausgetrocknetseins, nämlich in den meisten Internodien Höhlen von einer mehr oder weniger schneeweißen Farbe. Weiter bemerkte man nichts ungewöhnliches, ausgenommen in den Donkellans (die Stengelteile, welche in der Erde stecken). Es zeigte sich nämlich, daß diese oft ausschließlich im untersten schmalen Ende, welches aus dem Stecklinge entspringt, ganz orange-rot gefärbt und zum Teil abgestorben waren. Es ist klar, daß wenn der Donkellan ganz oder zum Teil abgestorben ist, der Weg von den Wurzeln zur Stengelspitze und zu den Blättern unterbrochen ist und daß die Folge davon das Vertrocknen und Absterben dieser letztern sein muß.

In dem Erkranken der Donkellans müssen wir also die Ursache der angeführten Erscheinungen sehen.

Es gelang mir, aus den angesteckten Teilen eine Anzahl von Schimmelpilzen zu züchten, worunter auch den Rotfäulepilz (darüber später Näheres); aber gerade deshalb war es mir damals unmöglich, vollkommene Sicherheit über die Krankheitsursache zu erlangen. Sichere Resultate erhielt ich mit einer zweiten Sendung kranken Rohres.

Am 29. April 1894 empfing ich von einer anderen Fabrik eine Rohr-

pflanze, welche dieselben Symptome zeigte wie die eben beschriebenen. Aus dem die Pflanze begleitenden Schreiben entnehme ich folgendes:

„Das Rohr stammt von einer sehr gut gelungenen Anpflanzung, von der aber ein Teil von Anfang an weniger gut wachsen wollte. Man trachtete dem zu begegnen durch eine Düngung mit schwefelsaurem Ammon, jedoch ohne viel Erfolg. Indessen stand das Feld, aus welchem das Ihnen zugesandte Rohr kommt, noch vor einem Monate sehr gut. Allmählich jedoch machte es Rückschritte, und da ich glaubte, daß die plötzlich eingetretene Trockenheit vielleicht die Ursache sein könnte, ließ ich das betreffende Stück der Anpflanzung hier und da unter Wasser setzen. Das half jedoch nichts; das Rohr geht immer mehr zurück und stirbt in der Regel ab. Schon sind ganze Pflanzen tot!"

Hieraus erhellt zur Genüge, daß wir es in beiden Fällen mit derselben Erscheinung zu thun hatten.

Obschon auch in diesem Falle andere Parasiten auftraten, namentlich Rost auf den Blättern und Bohrer, gelang es mir doch, aus den Donkellans den Krankheitserzeuger zu züchten. Es entwickelte sich daraus nur ein Schimmelpilz, der sich später als mit dem in den angesteckten Treibbeeten gefundenen identisch erwies.

III. Die mikroskopische Untersuchung.

Auch die mikroskopische Untersuchung der angesteckten Stecklinge zeigt wenig Charakteristisches.

Zunächst müssen die Pilzfäden genannt werden, die von außen her zuerst in die Gefäßbündel eindringen, später aber, nach dem Absterben der Zellen, auch in diesen letzteren zu finden sind. In stark angesteckten Stecklingen sind die Pilzfäden auch in dem unangeschnittenen Internodium zu finden und füllen dann, wie schon bemerkt, zuweilen die ganze Höhle an.

In anderen Stecklingen sind die Pilzfäden nur in den angeschnittenen Internodien zu finden und dann oft an beiden Enden gleichzeitig, was uns nicht zu verwundern braucht, da wir gesehen haben, wie leicht das Pilzmycel außen über den Steckling hinkriecht.

Ferner sind die Stecklinge oft ganz (Gefäße und Zellen) mit Bakterien erfüllt, auch an Stellen, wo die Pilzfäden noch nicht hingedrungen waren. Dies gilt wenigstens für die Stecklinge, die mir aus angesteckten Treibbeeten zugeschickt wurden. Bei Infektionsversuchen im Laboratorium war dies natürlich nicht der Fall.

Endlich bleibt auch hier die bei fast allen Rohrkrankheiten unvermeidliche Gummibildung nicht aus. Man sieht sie aber selten so stark wie hier. An Stellen, wo das Mycel erst kürzlich eingedrungen ist, zeigen die Zellwände schon große Anschwellungen, die später zusammenfließen und dann bisweilen, ohne Zweifel nur mit Hilfe der Bakterien, ganze Höhlen erfüllen können, die durch den Zerfall der Zellen entstanden sind.

In den angesteckten Unterenden der alten Stöcke macht man ungefähr dieselben Wahrnehmungen. Indessen sind hier Bakterien so gut wie nicht zu finden, wie in Erwägung der äußeren Umstände zu erwarten ist.

In keinem Falle sah ich Pilzfäden quer durch die feste Außenwand der Rohrstöcke dringen.

IV. Die Ursache der Krankheit.

Bei mikroskopischer Untersuchung der Donkellans der letzten Sendung ergab sich die Anwesenheit von Pilzfäden, welche leicht auf die gewöhnliche Weise gezüchtet werden konnten. Sie wachsen sehr schnell auf allerlei Stoffen, z. B. Agar-Agar oder auf sterilisierten Kartoffeln, und bilden hier rein-weiße, seidenglänzende Bündel, die sich einige Decimeter weit an den Wänden der Glasgefäße, in denen sie wachsen, erheben, jedoch ohne je zu einer direkten Sporenbildung überzugehen; Conidien fehlen also bei unserem Pilze.

Die Mycelfäden selbst sind überall ungefähr gleich dick und zeigen sehr allgemein die in der Mykologie wohlbekannten Schnallenfusionen.

Dasselbe Mycel erhielt ich auch aus den angesteckten Stecklingen der Treibbeete, worauf ich oben schon aufmerksam gemacht habe. In Reinkultur verbreitet es den wohlbekannten Pilzgeruch.

Aus dem Vorstehenden folgt, daß der Pilz große Uebereinstimmung mit demjenigen zeigt, welcher als Urheber der Rotfäule [1]) angesehen werden muß, weshalb er auch oft damit verwechselt worden ist. Ich glaube sogar, daß hier und da der durch ihn verursachte Schaden auf Rechnung des Rotfäulepilzes geschrieben worden ist. Er hat indessen mit der Rotfäule weiter nichts zu schaffen, sondern gehört, wie sich bald zeigen wird, in das Genus Marasmius. Mit diesem Namen werde ich ihn fürderhin bezeichnen.

Wegen der erwähnten Aehnlichkeit mit dem Rotfäulepilz ist es notwendig, hier die Unterschiede beider Pilze deutlich anzugeben. Es sind die folgenden:

1) Die obengenannten Schnallenfusionen kommen bei unserem Pilze vor, fehlen aber bei der Rotfäule.

2) Die schleimige Umhüllung der Mycelfäden, die bei feuchtem Wetter auf der Innenseite von durch Rotfäule angesteckten Blattscheiden angetroffen wird, fehlt bei Marasmius immer.

3) Sklerotien, welches die einzigen bis heute bekannten Organe sind, die der Rotfäulepilz bildet, entstehen bei unserem Marasmius nicht.

4) In Reinkulturen bildet die Rotfäule nie die mehrmals genannten schneeweißen Bündel von Mycelfäden.

Das erste Unterscheidungsmerkmal hat nur Wert, wo eine mikroskopische Untersuchung möglich ist; die drei anderen hingegen gestatten Jedermann, die zwei Schimmelpilze in den meisten Fällen von einander zu unterscheiden. Ich halte diese Unterscheidung zum Zwecke einer rationellen Bekämpfung für unerläßlich.

Studieren wir nun den Krankheitsurheber näher: Giebt man den weißen Pilzfäden andauernd Gelegenheit, in Glasröhren oder Glasdosen neue Nahrung aufzunehmen, indem man hier und da ein Stückchen

---

1) Krüger, Berichte der Versuchsstation für Zuckerrohr in West-Java. 1890. p. 64.

sterilisierter Kartoffel hinzufügt, so wachsen sie unverändert fort, ohne Fortpflanzungsorgane hervorzubringen. Ich habe zur Zeit, da ich dies schreibe (31. Dezbr. 1894), das Mycel in einer Glasdose auf diese Weise schon seit 15. Oktbr. am Leben erhalten.

Demzufolge kann man neue Röhrchen leicht erhalten, indem man eine Flocke der älteren mit einem gut sterilisierten Platingegenstand hineinbringt. Auch auf lebendigen Rohrstücken glückte dies ohne Schwierigkeiten, wie wir sofort sehen werden.

V. Infektionsversuche.

Von den zahlreichen Infektionsversuchen, die ich gemacht habe, um die parasitische Natur des Marasmius festzustellen, werde ich hier nur diejenigen erwähnen, welche am überzeugendsten sind.

Erster Versuch. Um den Unterschied zwischen der Rotfäule recht deutlich hervortreten zu lassen, machte ich folgenden Infektionsversuch:

Ich schnitt eine Rohrspitze ab und entfernte alle Blattscheiden, die auch nur den geringsten Fleck zeigten, und brachten sie darnach in ein hohes Cylinderglas mit ein wenig Wasser. Ein kleines Streifchen der untersten noch vorhandenen Blattscheide wurde derart ausgeschnitten, daß es mit seinem Unterende in ein Röhrchen gebracht werden konnte, in welchem sich eine Reinkultur unseres Schimmels fand, während es am oberen Ende mit der Blattscheide im Zusammenhange blieb.

Das Mycel wuchs mit großer Schnelligkeit über das Streifchen hin und ging bald auf die ganze Stengelspitze über, alles mit den schon genannten Bündeln von reinweißen, seidenglänzenden Pilzfäden umspinnend und die äußersten Blattscheiden und dadurch also auch die Blätter tötend, jedoch ohne die Stengelspitze selbst zum Absterben zu bringen.

Nach wochenlangem Aufbewahren ergab sich hierauf auf das deutlichste, daß ebensowenig Schleim- als Sklerotienbildung zu Stande kommt. An Stelle der letzteren fand ich hier jedoch die erste Sporenfrucht, woraus ich schloß, zu welcher Gruppe von Pilzen unser Parasit gehörte. Einmal damit im Reinen, war der Weg vorgezeichnet, auf welchem man weitere Resultate zu erlangen trachten mußte. Wie ich dies that, ist im 4. Versuch beschrieben. Ich halte mich bei dieser Sporenfrucht absichtlich nicht auf, weil sie sicherlich auf eine ungewöhnliche Weise zu Stande gekommen ist.

Zweiter Versuch. Den 31. Juli 1894 brachte ich Mycel, das sich als Reinkultur auf Agar-Agar entwickelt hatte, auf die frische Schnittfläche einer großen Anzahl von Stecklingen und anderen Rohrstücken, nachdem diese vorher gut rein gewaschen worden waren. Sie wurden unter einer Glasglocke feucht gehalten.

Am darauf folgenden 9. August wurden sie zum ersten Male untersucht. Das Mycel war dann schon bis zu den Knoten vorgedrungen und die Zellwände der infizierten Teile waren zu den schon genannten halbkugelförmigen Gummipfropfen angeschwollen. Gummi war auch hier und da in den Gefäßbündeln deutlich zu konstatieren, auch war die gewöhnliche Rotfärbung schon wahrzunehmen.

Am 24. und 31. Aug. wurden zwei andere Stücke untersucht. Hierbei ergab sich, daß die Pilzfäden schon bis in das erste unangeschnittene Internodium durchgedrungen waren. Die Rohrstücke waren von außen und selbst von innen noch hart, obschon sie innen schon rote Flecken zeigten.

Durch diesen Versuch ist die parasitische Natur unseres Marasmius zur Genüge bewiesen.

Dritter Versuch. Den 9. Novbr. machte ich noch einen solchen Versuch, wobei jedoch drei Stecklinge, jeder von zwei Augen, mit Marasmiusmycel infiziert wurden, daß sich auf sterilisierten Kartoffeln entwickelt hatte, während bei zwei ebensolchen Stecklingen Sporen (worüber sogleich Näheres) auf die Schnittfläche gebracht wurden. Sie wurden jeder einzeln in einer Glasröhre aufbewahrt, die mit einem Wattepfropfen geschlossen wurde.

Betrachten wir zunächst die mit Mycel infizierten. Auch hier zeigten sich Erscheinungen, die mit den Wahrnehmungen in den Treibbeeten übereinstimmen. Das Mycel drang langsam nach innen vor und wuchs gleichzeitig über die Stecklinge hin; die Augen liefen wie gewöhnlich aus, waren aber schon am 23. zum Teil mit Pilzfäden umsponnen.

Am 27. konnte ich diese letzteren auch in den unangeschnittenen Internodien finden und konstatieren, daß die auslaufenden Augen alle bis auf eines tot waren.

Eigenartig, obschon in Uebereinstimmung mit anderen dergleichen Fällen, ist es, daß die Infektion mit Sporen, die gleichzeitig vorgenommen wurde, so gut wie keinen Erfolg gehabt hatte [1]).

Vierter Versuch. Da aus dem ersten Versuche hervorgegangen war, welcher Pilzgruppe unser Parasit angehörte, war gleichzeitig der Weg vorgezeichnet, um die Infektion dergestalt einzurichten, daß sich noch weitere Sporenfrüchte entwickeln konnten. Zu diesem Zwecke brachte ich Mycel, das in gewöhnlicher Weise auf sterilisierten Kartoffeln gewachsen war, in Berührung mit der frischen Schnittfläche einer Anzahl Stecklinge von zwei Augen, und setzte das Ganze, nachdem es eine Zeit lang in feuchter Luft aufbewahrt worden war, in ein Körbchen aus Palmblättern mit flachem Boden, wie solche hier allgemein für Sendungen gebraucht werden. Das Körbchen mit den Stecklingen wurde dann noch mit sterilisierter Erde angefüllt. Hierauf wurde es in eine große Porzellanschale mit etwas Wasser gestellt und zuerst mit einer Glasplatte bedeckt. Es stellte sich später heraus, daß letztere überflüssig war, weshalb sie wieder weggenommen wurde.

Dies wurde am 10. Dezbr. 1894 in Ordnung gebracht und schon am 19. entwickelten sich zwei Pilzhüte aus der Erde, die in allen Merkmalen mit den früher gefundenen übereinstimmten. Bei näherem Zusehen gewahrte man, daß sie direkt aus einem Rohrstück entsprangen. Inzwischen wurde die Außenwand des Körbchens ganz in Pilzfäden eingehüllt, woraus sich am 29. Dezbr. zum ersten Mal eine

---

1) Man vergleiche z. B. die früher durch mich ausführlich untersuchte Schwarzfäule der Hyacinthen in: Ziekten der Hyacinthen. Haarlem 1883. p. 84—85.

größere Anzahl von Fruchtkörpern entwickelten. Von diesem Zeitpunkt ab bildeten sich tagtäglich Gruppen solcher an den Seitenwänden des Körbchens, während aus der Oberfläche der Erdschicht keine mehr hervorwuchsen. Dieses Verhalten dauerte bis zum 15. Jan. 1895, wo die Kultur weggeworfen wurde [1]).

Natürlich war sie hie und da begossen worden, da alle Fruchtkörper zu ihrer Ausbildung viel Wasser bedürfen.

Wie in den Freibeeten, so waren auch hier einige Augen ausgelaufen; sie fristeten aber ein kümmerliches Dasein.

Ein zweites, am 19. Dezember auf dieselbe Weise zubereitetes Körbchen begann am 7. Januar an den Seitenwänden Pilzhüte zu bilden. Ich gelangte so in den Besitz einer solchen Anzahl von Fruchtkörpern, daß ich diese hinlänglich studieren konnte. Die Resultate dieser Untersuchung findet man im folgenden Kapitel.

Beim Untersuchen des Inhaltes des Körbchens ergab sich, daß die ausgelaufenen Augen Stecklingen angehörten, die äußerlich beinahe nichts Ungewöhnliches zeigten. Ich untersuchte drei solcher Stecklinge. Das nicht angeschnittene Stengelglied war noch hart und hatte auch ziemlich die normale Farbe beibehalten; außen zeigte sich hier und da das weiße Mycel. Die beiden angeschnittenen Glieder eines jeden Stecklings waren ganz zersetzt. Ein Längsschnitt belehrte mich, daß das unangeschnittene Internodium zweier Stecklinge innen eine lange, schmale, von einem roten Rande umgebene Höhle aufwies, welche an den Knoten scharf begrenzt war. Der dritte Steckling war ganz rot. Alle drei waren innen mit Pilzfäden erfüllt.

Die Wurzeln hatten sich ganz gut entwickelt und waren mindestens nicht direkt durch den Pilz getötet. An jedem der drei Stecklinge befand sich noch ein lebendiges Auge, während das andere nach dem Auslaufen abgestorben war; augenscheinlich dasjenige, welches sich dem infizierten Ende des Stecklings näher befand.

Die Vorgänge stimmten also, wie übrigens zu erwarten war, vollkommen mit denjenigen überein, welche früher an den durch die Fabriken eingesandten Stecklingen beobachtet worden waren.

VI. Die Sporenbildung.

Die Fruchtkörper, welche sich auf den Seitenwänden des mehr genannten Körbchens bildeten, waren alle von schmutzig-weißer Farbe und ziemlich klein. Sie haben die wohlbekannte Gestalt eines Sonnenschirmes (siehe die Figuren), das heißt, sie bestehen im erwachsenen Zustande aus einem mehr oder weniger flachen Schilde, der in der Mitte durch einen Stiel getragen wird. Ihre Größe ist ziemlich variabel. Bei den größten, die ich fand, hatte der Schild einen Durchmesser von 15 mm, während der Stiel, der oft ein wenig gebogen war, ungefähr ebenso lang ist. Schild und Stiel sind fest mit einander verbunden.

Der Stiel entspringt direkt aus den oft erwähnten Pilzfäden; er

---

1) Die hier angegebene Art des Züchtens von Agaricineen in Körbchen mit Erde kann ich den Mykologen nicht genug anempfehlen. Auf andere Weise im Großen gezüchtet, bildeten sich selten oder nie Fruchtkörper.

ist oben hohl, von sehr verschiedener Dicke und auch nicht immer gleich lang. Seine Oberfläche ist mehr oder weniger behaart.

Dies ist auch mit der Oberseite des Schildes der Fall. Auf der Unterseite, die für uns wichtiger ist, zeigen sich aufrechtstehende, dünne Lamellen, die strahlenförmig um den Insertionspunkt des Stieles herum angeordnet, aber von letzterem deutlich abgetrennt sind. Sie haben einen scharfen, nach unten gerichteten Rand und verzweigen sich gegen den Schildrand zu, bis zu welchem sie reichen, höchstens ein oder zwei Mal. Auf diesen Lamellen bilden sich die Sporen auf die für Hutpilze gewöhnliche Weise aus.



Fig. 1 (nat. Gr.)

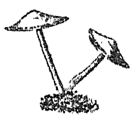


Fig. 2 (nat. Gr.)

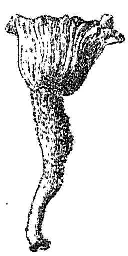


Fig. 3 (nat. Gr.)



Fig. 4 (Vergr. 400 mal).

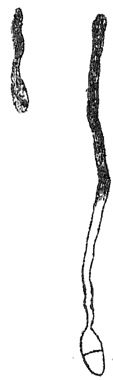


Fig. 5 (Vergr. 400 mal).

Die meisten Fruchtkörper, die ich auf den Körbchen gefunden habe, begannen sich früh morgens zu entwickeln und hatten dann kegelförmige Gestalt (Fig. 1); nach und nach wurde der Schild flacher und flacher, sodaß er gegen Mittag gewöhnlich ganz flach war (Fig. 2) um später, gegen den Abend, oft nach oben umzuschlagen. Das Ganze nimmt dann Becherform an (Fig. 3). Sie sitzen gewöhnlich in größerer Zahl beisammen, da die Stielchen aus ein und demselben Punkte entspringen.

Die Sporenbildung beginnt erst dann, wenn der Schild flach ausgebreitet ist, also gegen Mittag. Legt man zu dieser Zeit ein Deckgläschen oder ein Stück schwarzen Papieres unter die Fruchtkörper, so gewahrt man, wie sich darauf nach und nach ein weißes Pulver ansammelt. Haben sich die Sporenfrüchte auf der Erde gebildet, so wird diese ebenfalls ganz weiß.

Die Sporenbildung hält die ganze Nacht an, um erst am folgenden Morgen aufzuhören. Die Fruchtkörper werden dann dunkler und vertrocknen. Sie können beliebig lange in trockenem Zustande aufbewahrt werden. Durch Aufweichen in Wasser nehmen sie wieder die ursprüngliche Gestalt an, aber mit der Sporenbildung ist es dann ein für alle Mal aus.

Die Sporen (Fig. 4) sind rein weiß, sehr klein und werden in riesiger Anzahl gebildet. Sie haben eine etwas unregelmäßige Gestalt. Sie sind mehr oder weniger langgestreckt, in der Mitte am dicksten (ungefähr 0,004—0,005 mm), gegen die Enden zu schmäler werdend, nach dem einen aber schneller als nach dem andern. Beide Enden sind stumpf und das dünnere ist mehr oder weniger gebogen. Die Länge beträgt 0,016—0,020 mm. Jede Spore enthält in der Mitte ein größeres, kugelrundes und mehrere kleinere Oeltröpfchen.

Wie bei anderen Hutpilzen, kann man die Sporen lange Zeit trocken aufbewahren. Bringt man sie hernach in Wasser oder in eine Nährlösung, so keimen sie, das heißt, sie entwickeln aus einem oder aus beiden Enden dünne Pilzfäden, die sich unter günstigen Umständen wieder zu einem Mycel entwickeln können. Beließ ich sie in Wasser, so gingen sie wegen Nahrungsmangel schnell zu Grunde, brachte ich sie dagegen auf Agar-Agar oder in Semangkasaft[1]), so gelang es mir, aus den Sporen wieder das schon oben beschriebene Mycel zu erhalten (Fig. 5).

Ich mache darauf aufmerksam, daß hiermit die ganze Lebensgeschichte unseres Pilzes bekannt ist, und will nur noch beifügen, daß derselbe in meinen zahlreichen Kulturen auf den verschiedensten Stoffen nie Sklerotien gebildet hat. Wohl entstehen auf altem Mycel oft kleine weiße Körperchen [2]), die an junge Sklerotien erinnern, aber sie erhalten nie die charakteristischen Eigenschaften der letzteren, obschon sie auch unbeschadet ihres Lebens austrocknen können.

Ein einfacher Versuch bewies, daß unser Parasit auch keine Sklerotien nötig hat, um sich, abgesehen von den Sporen, während der langen Trockenzeit am Leben zu erhalten.

Pilzfäden aus einer Reinkultur vom 3. Mai 1894, die am 2. Januar 1895 in frische Röhrchen mit Agar-Agar übergebracht wurden, bildeten hier direkt ein kräftig wachsendes Mycel. Sie waren also ohne neue Zufuhr von Wasser oder von Nahrungsstoffen sieben Monate lang am Leben geblieben!

Nach all dem Mitgeteilten gehört unser Pilz in das Genus Marasmius, welches nach Saccardo[3]) nicht weniger als 320 Arten umfaßt! Anstatt diese 320 meist kurzen Diagnosen (die Beschreibung der Sporen z. B. fehlt überall) zu vergleichen, ziehe ich es vor, die Art, welche uns hier beschäftigt, mit dem Namen Marasmius Sacchari zu belegen.

---

1) Ausgepreſster und filtrierter Semangkasaft (Citrullus edulis) läſst sich, besonders nach Zugabe von ein wenig Citronensäure, sehr leicht sterilisieren und ist ein ausgezeichnetes Nährmittel für allerlei Pilze, was ich in erster Linie allen Untersuchern in den Tropen anempfehlen kann.

2) Auch von de Bary vermeldet, Morphologie der Pilze p. 45.

3) Sylloge Fungorum. V. p. 503.

Die meisten bisher bekannten Arten dieses Genus gehören nicht zu den Parasiten. Es ist daher von Interesse, daß zur Zeit, wo ich dies schreibe, eine andere Art bekannt geworden ist (M. semiustus), die eine Krankheit des Pisangs (Musa) hervorruft[1]).

VII. Uebersicht.

Aus den vorstehenden Mitteilungen können wir, nach meinem Dafürhalten, folgende Krankheitsgeschichte feststellen:

Wenn die Freibeete auf einem Boden angelegt werden, in welchem sich Marasmius Sacchari befindet, so dringt sein Mycel nebst anderen Schimmelpilzen und Bakterien in die angeschnittenen Internodien und hat hier Gelegenheit, sich durch die Nahrung, die aufzunehmen es in der Lage ist, so kräftig zu entwickeln, daß es große Mycelbündel bildet, die sich nicht allein nach allen Richtungen im Boden verbreiten und oft auch über die Oberfläche der Stecklinge hinwachsen, sondern gleichzeitig durch die Knoten hindurchdringen und so den ganzen Steckling oder Rohrstengel anstecken.

Der Nachteil für die auslaufenden Augen ist zweierlei Art: Erstens werden sie durch die Mycelbündel umsponnen und auf diese Weise in ihrem Wachstum gehindert oder selbst erstickt; zweitens wird der Nahrungsstoff aus den Stecklingen, den die Augen zu ihrer Entwickelung benötigen, durch den Schimmelpilz verbraucht.

Ist der Pilz soweit vorgedrungen, daß er den Ursprung der Wurzeln erreicht, so sterben auch diese ab und die auslaufenden Augen leiden auch noch an Wassermangel; Gründe mehr als genug, um sich schlecht zu entwickeln, tote Blätter zu zeigen oder selbst ganz abzusterben.

Werden dermaßen angesteckte „Dedderans" als Pflanzenmaterial verwendet, so bleibt das Mycel in den Stücken alten Rohres am Leben und wird damit in die Rohrfelder übertragen, wo es sich auf zwei Weise verhalten kann. Entweder dringt es bei der Weiterentwickelung des jungen Stengels direkt in diesen hinein und behindert ihn während der ganzen Regenzeit oder doch zu Anfang derselben im Wachstum, oder es findet dies erst später statt, wenn das Rohr annähernd erwachsen ist und dann ist es die Ursache des plötzlichen Absterbens des alten Rohres, wie oben beschrieben wurde.

Hierbei muß noch darauf hingewiesen werden, daß durch das Zerschneiden der Pflanzstöcke auf ein Auge die Anzahl der Wunden vergrößert und demzufolge das Eindringen des Pilzes sehr erleichtert wird, auch bezüglich der Pflanzen, welche in den Freibeeten noch nicht angesteckt waren und deren Augen also normal ausgelaufen waren.

Dieser Schlußfolgerung gemäß ist also nur Gefahr vorhanden, wenn man die Methode der Freibeete zur Anwendung bringt. Jedoch ist es auch möglich, daß die Pflanze beim direkten Pflanzen angesteckt wird. Gerade das dicht Beieinanderliegen der angeschnittenen Stöcke erleichtert die Infektion in Freibeeten so sehr.

Zum Schlusse noch die Bemerkung, daß es mir vorkommt, als ob

1) Bull. Bot. Gard. Trinidad. Januar 1895. p. 13.

wir in Marasmius Sacchari einen Pilz erblicken müssen, der hier und da im Boden lebt, ja der auf Java vielleicht sehr verbreitet ist, aber gewöhnlich in einer Form vorkommt, daß wir nicht viel davon bemerken. Da er monatelang fast ohne Nahrungs- und Wasserzufuhr leben kann, so kann dies während langer Zeit der Fall sein.

Der Pilz erreicht erst dann den Höhepunkt seiner Entwickelung, wenn viel Nahrung zu seiner Verfügung steht. Er erlangt dadurch die Fähigkeit, als Parasit des Zuckerrohrs aufzutreten und in diesem eine Krankheit zu verursachen, die den Tod der befallenen Pflanzen im Gefolge haben kann, wenn schon dies nicht immer oder erst nach langer Zeit eintrifft.

Hieraus folgt, daß die Krankheit nur für angeschnittene Stengel gefährlich werden kann.

Ebenso kann der Pilz erst nach Aufnahme der nötigen Nahrungsstoffe Fortpflanzungsorgane bilden. Dazu ist aber auch viel Wasser nötig, und es braucht uns daher nicht zu wundern, daß Fruchtkörper in wildem Zustande noch nicht angetroffen worden sind. Wo aber die Umstände für ihre Bildung günstig sind, werden sie sich auch bilden und durch die Sporen, die sie fallen lassen, kann ein neuer Infektionsherd entstehen. Direkte Infektion des Zuckerrohres durch Sporen wird aber eine Ausnahme sein, wie aus dem Vorstehenden erhellt. Wir haben es hier also, botanisch gesprochen, mit einem fakultativen Parasiten zu thun, der, genauer ausgedrückt, zu den Kteinophyten [1]) gehört und als Ursache einer Wundinfektionskrankheit des Zuckerrohres auftritt. Er gehört also in dieselbe biologische Gruppe wie die Pilze, welche die Ursache der Schwarzfäule und des roten Rotzes sind.

Diese Bemerkung ist mit Bezug auf die Bekämpfung von großer Wichtigkeit.

VIII. Die Bekämpfung.

Da die Krankheit auf zweierlei Weise auftritt, muß auch die Besprechung der Bekämpfungsmaßregeln nach zwei Richtungen hin geschehen.

Wie es mir scheint, ist dem plötzlichen Absterben alter Rohrfelder am leichtesten zu begegnen. Aus den vorausgehenden Betrachtungen erhellt zur Genüge, daß Marasmius Sacchari eine solche Wirkung im großen Maßstabe nur dann haben kann, wenn die Rohrfelder mit Pflanzmaterial aus Freibeeten bepflanzt worden waren. Das einfachste Mittel, um die Krankheit zu verhüten, würde daher sein, keine Freibeete mehr in Anwendung zu bringen. Ich glaube aber, daß das Obenstehende uns genugsam über die Lebensweise des Parasiten belehrt hat, um nicht zu diesem äußersten Mittel Zuflucht zu nehmen, umsomehr, da ein solcher Vorschlag in Erwägung des vielleicht seltenen Auftretens von Krankheitsfällen und der praktischen Vorteile der Freibeete doch nicht bald befolgt werden würde.

---

1) Man vergleiche de Bary, Morphologie der Pilze. 1884. p. 382, und in meiner Arbeit: Untersuchungen über den Einfluſs parasitischer Pilze auf ihre Nährpflanzen. (Pringsheim's Jahrb. Bd. XXIV. Heft 4. p. 500.)

Da man es aber einem Freibeete leicht ansehen kann, ob es angesteckt ist oder nicht, so rate ich einfach an, ein angestecktes Freibeet nie als Pflanzmaterial zu benützen. Vor allem muß ich dabei noch davor warnen, daß man aus solchen Freibeeten aus übel angebrachter Sparsamkeit scheinbar gesunde Augen auswähle und pflanze. Es liegt ja auf der Hand, daß man beim Zerschneiden der Stöcke eine große Zahl von neuen Stengelwunden macht und auf diese Weise dem allenfalls auf der Oberfläche befindlichen Mycel Gelegenheit bietet, sich kräftig zu entwickeln und später die junge Pflanze zu befallen.

Bringt man diese Vorsichtsmaßregel in Anwendung, so glaube ich, daß man von dem durch Marasmius Sacchari verursachten plötzlichen Absterben stehenden Rohres wenig belästigt werden wird.

Hat man aber die Krankheit in seinen Anpflanzungen konstatiert, so ist sofortiges Schneiden und Verarbeiten des Rohres das einzige Mittel, um so wenig als möglich davon belästigt zu werden.

Schwieriger wird es sein, den Pilz von den Freibeeten ferne zu halten. Vollständig wird dies überhaupt wohl nicht gelingen, doch giebt es Vorbeugungsmaßregeln genug, um das Auftreten des Parasiten zu beschränken.

In erster Linie kommt hier die Untersuchung des Bodens in Betracht, auf welchem man die Freibeete anzulegen wünscht. Findet man darin die oben beschriebenen weißen Mycelbündel, so ist die Parzelle von dem Gebrauch zu Freibeeten auszuschließen. Von einer Desinfektion erwarte ich nicht viel. In den meisten Fällen wird dies auch nicht nötig sein, da immer genügend Land zur Verfügung stehen wird.

In dritter Linie muß man das Hervorbringen von Wunden am Pflanzmaterial so viel wie möglich verhüten: Erstens, weil wir gesehen haben, daß der Pilz vornehmlich durch die Wunden eindringt, und zweitens, weil er dadurch erst genügend Nahrung aufnehmen kann, um gefährlich zu werden.

Es wird daher nötig sein, das Pflanzmaterial so wenig als möglich zu zerschneiden, bevor es in die Freibeete kommt und die Schnittflächen wie gegen Schwarzfäule abzuschließen.

Da die Sporen für gewöhnlich wohl nicht auf der Oberfläche des Rohres vorkommen werden, wird das Reinigen des letzteren hier nicht viel nützen.

So lange noch kein besseres Abschlußmittel gefunden ist, wird Theer wohl als bestes empfohlen werden können.

Zum Schlusse schlage ich vor, die hier beschriebene Krankheit mit dem Namen Donkellankrankheit zu belegen.

West-Java, 22. Oktober 1995.

Fusicladium betulae spec. nov. auf den Blättern der Birke.

Von

Dr. **Rud. Aderhold**

in

Proskau.

In Heft X seiner Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie hat Brefeld p. 220 eine Conidienform von Venturia ditricha f. betulae (Fies) beschrieben und auf Taf. VII in Fig. 57 und 58 abgebildet, welche meines Wissens bisher im Freien nirgends beobachtet worden ist. Es lag nahe, zu vermuten, daß sie zu irgend welcher Jahreszeit parasitisch oder saprophytisch auf den Organen der Birken zu finden sein müßte.

Durch meine Untersuchungen über die Fusicladien unserer Obstbäume, welche demnächst in einer längeren Abhandlung in den landwirtschaftlichen Jahrbüchern erscheinen wird, wurde ich veranlaßt, in dieser Richtung hin bezüglich Venturia ditricha betulae systematische Beobachtungen anzustellen.

Die Perithecienform dieses Pilzes war sowohl im Frühjahr 1894 wie Frühjahr 1895 auf den Blättern der Birken des hiesigen Arboretums außerordentlich häufig. Die Perithecien sind bekanntlich von nahezu kugliger Form und mit sehr kurzem Halse versehen. Ihre Größe wechselt innerhalb weiter Grenzen. Ich maß zwischen 60 und 120 μ Durchmesser. Sie brechen meistens blattunterseits durch, jedoch sind auch nach der Blattoberseite heraustretende keine Seltenheit. Bekanntlich ist die Gattung Venturia ausgezeichnet durch die an der Mündung der Perithecien stehenden Borsten. Allein es ist keine Seltenheit, daß diese Borsten fehlen, wie ich sowohl bei dieser Birkenform wie besonders bei der am anderen Orte genauer zu schildernden Birnenblattform der Venturia ditricha konstatierte. Möglicherweise war es auch dieser Umstand, der Winter (Rbh. Kryptogamenfl. Bd. I. Abt. II. p. 433) die Trennung der Gattung Venturia von der borstenlosen, sonst ganz analogen Gattung Didymophaeria heikel erscheinen ließ. Wo Borsten bei unserer Venturia vorhanden waren, beobachtete ich bis zu 6 an einem Perithecium und fand sie 20—50 μ lang bei 4 μ größter Breite.

Die ungleich- zweizelligen Ascosporen gingen ausnahmslos in sämtlichen Perithecien, deren allein ich mehrere Hundert mit dem Mikrotom geschnitten habe, mit der längeren Zelle im Ascus voran. Ich fand sie im Jahre 1894 schon gegen Ende April reif und konnte ihr Ausschleudern beobachten. Im Jahre 1895 waren sie zwar auch Ende April fertig gebildet, allein Ejaculation wurde erst von Mitte Mai ab beobachtet. Einmal begonnen scheint dieselbe lange Zeit fortgehen zu können, denn ich fand noch Anfang Juli einzelne Perithecien in der Entleerung.

Während dieser ganzen Zeit habe ich wiederholt Impfungen auf lebende Birkenblätter mit denselben ausgeführt, aber anscheinend immer ohne Erfolg.

Schon wollte ich deshalb den Gedanken an ein parasitisches Wachstum derselben aufgeben, da fand ich Anfang August auf den Stielen der Blätter von Birken unseres Arboretums kleine, für das bloße Auge eben sichtbare schwarzgrüne Räschen, die sich unter dem Mikroskop als ein Fusicladium zu erkennen gaben, das ich, einmal darauf aufmerksam geworden, auf sämtlichen Bäumen der Betula. alba unseres Arboretums in bald größerer, bald geringerer Häufigkeit fand, ja das ich sogar auch auf Betula verrucosa Ehrh. fastigiata hort. entdeckte. Anfangs trat es überall nur auf den Blattstielen auf, allein im September und Oktober fand ich es auch auf der Blattspreite sehr häufig. Es bildete hier Flecken von schwarzer Farbe mit fein zackigen bis dendritischen Umrissen, so daß ich durchaus an die Flecke von Fusicladium dendriticum Fckl erinnert wurde. Die Vegetationen erreichten meist nur 3—4 mm Durchmesser, allein es traten oft 5—10 und noch mehr auf einem Blatte auf, so daß die Krankheit sehr auffällig wurde und es mich wundert, daß sie bisher nicht beschrieben wurde.

Die stark kranken Blätter fielen ähnlich, wie man das von den fusicladienkranken Blättern der Obstbäume weiß, vorzeitig ab.

Der Pilz selber produziert ein subkutikuläres Mycel, dessen Hyphen bisweilen zu Strängen bei einander verlaufen, anfangs farblos sind, bald aber gebräunt und kurzgliedrig werden und so den dendritischen Wuchs veranlassen. Sie erzeugen aufrechte büschelig oder einzeln stehende, meist ein-, selten zweizellige Conidienträger, die selten und nur in der Jugend schlank, später knorrig und gelbbraun sind und 30—70 μ hoch gefunden wurden. Ich sah an ihnen stets nur eine Spore, doch deutet der knorrige Träger darauf hin, daß mehrere Sporen an den einzelnen Knoten nach einander gebildet werden.

Die Conidiensporen sind zweizellig, selten dreizellig, länglich bis kahnförmig und braungelb gefärbt. An der Querwand ist die Spore sehr leicht eingeschnürt. Die obere Zelle ist zuweilen etwas kleiner als die untere und am Scheitel rund oder mit kurzem Spitzchen besetzt. Die untere Zelle ist nach der Basis hin stielartig verschmälert, an der Ansatzstelle quer abgestutzt. Die Länge der Sporen wurde zu 15—24 μ bei 5—9 μ Breite gemessen.

Nach diesen Eigenschaften gehört dieser Hyphomycet zu der Gattung Fusicladium, der er auch seinem ganzen Auftreten nach gleicht. Ich will ihn, um einen kurzen Namen zu haben, als Fusicladium betulae spec. nov. bezeichnen.

Daß dasselbe die Conidienform von Venturia ditricha f. betulae darstellt, ist für mich, der ich die Perithecien auf denselben Blättern und oftmals in direkter Verbindung mit den winterlichen Resten der Dendritenstränge sah, unzweifelhaft. Allein es geht, unter Berücksichtigung der Variationen, welche auch andere Fusicladien bei künstlicher Kultur erleiden, auch aus den Kulturen Brefeld's hervor. Ich selbst stellte zwar sowohl mit den Ascosporen wie mit den Conidien Kulturversuche an, allein durch

äußere Verhältnisse veranlaßt; konnte ich sie nicht über die Keimungsstadien hinausführen.

Brefeld's Zeichnungen der Conidienform von Venturia ditricha weichen von Fusicladium betulae ein wenig in der Größe und Form der Sporen und vor allem in der köpfchenartigen Stellung mehrerer solcher auf einem Conidienträger ab. Die natürlich entstandenen Sporen sind nur 15—24 μ lang, während Brefeld für die seinen 30—34 μ maß, erstere sind fast ausschließlich zweizellig, letztere wenigstens der Zeichnung nach meist dreizellig. Beiderlei Variationen habe ich aber, wie ich am anderen Orte zeigen werde, auch bei den Fusicladien der Obstbäume auftreten sehen. Zudem schwankt auch die äußere Form der spontan entstandenen Conidien nach dem Standort in weiten Grenzen, so daß ich z. B. auf Birken in dem nördlichen Teile des hiesigen Arboretums vornehmlich Sporen mit abgerundetem Scheitel, auf einer Birke in meinem Garten fast ausschließich solche mit spitzem Scheitel fand.

Noch weniger Gewicht als Sporenform und Größe hat aber die erwähnte bei künstlicher Kultur und natürlichem Vorkommen verschiedene Anordnung der Sporen, da dieselbe in gleicher Weise auch wieder bei den Obstbaum-Fusicladien zu finden ist.

Den negativen Erfolg meiner Infektionen mit Ascosporen erkläre ich mir einmal aus dem Umstande, daß ich die Blattspreite impfte, während der geeignetste Ort dafür der Stiel sein dürfte und zweitens daraus, daß nach meinen Erfahrungen Infektionen mit Fusicladien und Venturien überhaupt nur in geringen Prozenten gelingen und im Versuchsjahre die Witterungsverhältnisse ihnen vielleicht noch besonders ungünstig waren. Letzteres scheint mir aus dem Umstande hervorzugehen, daß ich, trotzdem die Perithecien schon im Mai reiften, eine umfangreichere Infektion doch erst im August beobachtete.

Erwiderung.

Von

F. J. Moller.

In No. 20/21 des Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. las ich einen Aufsatz von R. Burri in Bonn über mein Verfahren der Züchtung von Hefekulturen mittels des elektrischen Stromes.

Ich weiß nicht, wo der genannte Verf. des Referates über mein Verfahren sich unterrichtet hat, jedenfalls aber bringt er unrichtige Daten, weshalb ich mich zu dieser Erwiderung veranlaßt sehe.

Nach einer kurzen Beschreibung meines Verfahrens sagt der Verf.:

„Unverständlich ist die Behauptung des Verf.'s, man könne unter Anwendung des elektrischen Stromes diejenige Hefeart rein züchten, welche die größte Ausbeute liefert. — Solches wäre nur möglich,

wenn diese Hefe als Träger der gewünschten guten Eigenschaften gleichzeitig eine höhere Widerstandskraft gegen den elektrischen Strom besäße, als sämtliche andere bei der Isolierung in Betracht fallende Arten, bezw. Rassen."

Ich dagegen bin durch meine Versuche zu den in meinem Vorberichte über mein Verfahren niedergelegten Behauptungen gekommen, die auch in der deutschen Patentschrift zum Ausdruck kommen:

Die verschiedenen Bakterien haben gegen den elektrischen Strom ein verschiedenes Widerstandsvermögen. Während z. B. Sproßpilzen Ströme gewisser Stärke zum Wachstume und zur Gärthätigkeit zuträglich sind, werden Spaltpilze schon bei Einwirkung dieser Ströme außer Thätigkeit gesetzt. Infolgedessen werden in Kulturen von verschiedenen Mikroben bei Einwirkung eines Stromes von bestimmter Stärke nur die Gattungen lebensfähig bleiben, die eine stärkere Widerstandskraft besitzen, während alle anderen in der Entwickelung gehemmt werden. Es ist hierdurch möglich, Reinkulturen irgend welcher Mikrobenart vor dem Degenerieren zu schützen, resp. von Verunreinigung durch andere Mikroben, die ein schwächeres Widerstandsvermögen gegen den elektrischen Strom besitzen.

Im praktischen Betriebe, wo hauptsächlich nur die Arten von Saccharomyces cerevisiae in Betracht kommen, erhalte ich mir dieselben nicht nur rein vor Infizierung mit Spaltpilzen, sondern ich bin auch in der Lage, mir die Hefeart, die mir am besten entspricht, dauernd zu erhalten und vor dem Degenerieren zu schützen, da der im Laufe des Betriebes immer wieder gleich stark einwirkende Strom die Entwickelung anderer Arten verhindert.

Durch meine Versuche habe ich festgestellt, daß sich bei Züchtung von Hefekulturen unter Einwirkung stets gleich starker Ströme die Hefezellen in immer gleicher Art entwickeln, bei weiterer Fortführung der Kulturen auch bis zu einer gewissen Grenze immer stärkere Ströme vertragen und die Entwickelung anderer Bakterien mit geringerem Widerstandsvermögen vollständig unterdrückt wird.

Da ich jetzt Versuche mit meinem Verfahren im Großbetriebe durchführe, werde ich in nächster Zeit einen vollständigen Bericht über die Resultate dieser sowie der Vorversuche folgen lassen.

Zborowitz, 17. Januar 1896.

Zusammenfassende Uebersichten.

Ueber den Reifungsprozess der Käse.

Kritisches Sammelreferat

von

Dr. Valerian v. Klecki,
Assistent an der Lehrkanzel für Tierzucht und Molkereiwesen der k. k. Jagellonischen Universität in Krakau.

(Schluß.)

Bakteriologie des Käsereifungsprozesses.

Die Frage nach den Ursachen der im Käse während der Reifung desselben sich vollziehenden chemischen Umsetzungen ist, trotz zahlreicher Untersuchungen, und namentlich der bahnbrechenden Arbeiten von Adametz und Duclaux, durchaus nicht allseitig erforscht. Es ist dies verständlich, wenn man bedenkt, wie kompliziert diese Vorgänge sind und wie sehr dieselben von der Käseart (Art der Bereitung) und der Reifungsart (Art der Aufbewahrung), sowie von den im Käse vorhandenen Bakterienkeimen abhängen. Die meisten bisherigen Untersuchungen beziehen sich auf den Emmenthaler Käse und es giebt viele typische Käsearten, welche bis jetzt bakteriologisch gar nicht untersucht worden sind. Duclaux hat auch einige französische Käse (namentlich den Cantalkäse) in dieser Richtung studiert, aber seine klassischen Untersuchungen, welche hauptsächlich das Studium der morphologischen und physiologischen Eigenschaften der von ihm aus Cantalkäse [1]) kultivierten Tyrothrix-Arten umfassen, lassen den Zusammenhang dieser Bakterienarten mit den Reifungserscheinungen nicht genügend klar erkennen, weil direkte Versuche mit Käsen (Bereitung von Käsen aus mit den gefundenen Mikroorganismen infizierter Milch) von Duclaux nicht gemacht worden sind. Der Zusammenhang der Tyrothrix-Arten mit dem Reifungsprozeß des Käses wurde von Duclaux nur insofern nachgewiesen, als gezeigt wurde, daß diese Mikroorganismen in sterilisierter Milch tiefgreifende Veränderungen hervorrufen, welche im wesentlichen den beim Käsereifungsprozeß Platz greifenden gleichen. Jüngst hat Winkler (XLI) die Duclaux'schen Forschungen durch eigene Untersuchungen, zu welchen direkt aus dem Laboratorium von Duclaux stammende Kulturen verwendet worden waren, in sehr wünschenswerter Weise ergänzt. Die hier hervorgehobene Lücke in den Versuchen von Duclaux wurde durch direkte Versuche an Käsen von Winkler ausgefüllt, wobei, in Bestätigung der von Duclaux vertretenen Anschauung, thatsächlich ein Einfluß auf die Käsereifung (auch bei Hartkäsen), namentlich der Formen Tyrothrix urocephalum

1) Der Cantalkäse gehört nach Kirchner und Fleischmann zu den Hartkäsen, während ihn v. Freudenreich zu den Weichkäsen zählt.

und Tyrothrix tenuis konstatiert wurde. Weniger günstig fielen die Versuche mit Tyrothrix filiformis und Tyrothrix distortus aus, von denen der erstgenannte die Lochbildung im Käse zu vermehren scheint.

Ueber die Rolle der einzelnen Gruppen von Bakterienarten (Milchsäure-, Buttersäure-, peptonisierende Bakterien) sind die Ansichten verschiedener Forscher in so mancher Beziehung geteilt, über einige dieser Gruppen (z. B. die Buttersäurebakterien) wissen wir fast gar nichts, geschweige denn über die Unterschiede, welche einzelne Arten einer bestimmten Gruppe (z. B. einzelne Arten von Buttersäuregährungserregern) in ihrem Verhalten beim Reifungsprozeß einer bestimmten Käsesorte zeigen. Ueber symbiotische Vorgänge beim Reifen des Käses ist bis jetzt kaum etwas bekannt, obwohl solche Vorgänge entschieden stattfinden müssen, worauf auch Fleischmann in seinem „Lehrbuch der Milchwirtschaft 1893“ auf S. 87 hinweist. Auch über die Rolle von Schimmelpilzen bei einigen Käsesorten (Roquefort, Gorgonzola, Brie etc.) fehlen uns zur Zeit genaue Kenntnisse. Es mag gleich nebenbei erwähnt werden, daß nach Fleischmann (l. c). dieselbe darin besteht, daß die Schimmelpilze die Wirkung der Säurebakterien in Schranken halten und die saure Reaktion des Käses allmählich so weit vermindern, daß die Bakterien der Eiweißzersetzung von der Oberfläche der Käse aus in Thätigkeit treten können.

Die ersten grundlegenden bakteriologischen Arbeiten über den Prozeß der Käsereifung sind diejenigen von Duclaux. In diesen Untersuchungen legte Duclaux das Schwergewicht auf diejenigen Mikroorganismen, welche das Kaseïn zu peptonisieren vermögen. Nach Duclaux sind es eben diese Bakterien, welche beim Reifungsprozeß des Käses die Hauptrolle spielen. Die Mikroorganismen, welche den Milchzucker vergären, hätten in dieser Beziehung nur eine untergeordnete Bedeutung. Auf S. 215 seines berühmten Werkes „Le lait“ schreibt Duclaux:

> „Mais ces ferments du sucre [1]) ne sont pas pour le moment ceux qui nous intéressent. Leur rôle est toujours médiocre et restreint. Ce sont surtout les ferments de la caséine que nous devons étudier parce qu'ils jouent le rôle principal dans la maturation régulière des fromages ou les viciations de goût dont ces produits sont trop fréquemment atteints“.

Bei der Reifung der Käse (namentlich der Hartkäse) wird zwar der Milchzucker (s. o.) vollständig zersetzt, aber diese Gärung, welche gleich nachdem der Käse aus der Presse gekommen ist, beginnt und deswegen von Duclaux „fermentation initiale“ genannt wird, hat nach Duclaux nur die Lochung des Käses zur Folge, steht aber mit der eigentlichen Reifung nicht in direktem Zusammenhange. Diese erste Gärung kann nach Duclaux in verschiedener Weise verlaufen und den Charakter einer Milchsäuregärung, alkoholischen

---

1) Es werden darunter Actinobacter polymorphus (ein den Milchzucker in Alkohol und Kohlensäure spaltender Mikroorganismus), Milchsäurebakterien und verschiedene Mycoderma-Arten gemeint.

Gärung (durch bestimmte Hefearten veranlaßt), Buttersäuregärung u. s. w. tragen. Durch das auf das Pressen nach kurzer Zeit folgende Salzen wird diese Gärung in ihrer Intensität gehemmt. Der Zusammenhang der Gärung des Milchzuckers mit der Lochung der Käse ist daraus ersichtlich, daß diese Gärung, nach Duclaux (XXVII, 313) durch anaërobe gasbildende Mikroben eingeleitet wird. Nun wird aber allen Mikroorganismen, welche die erwähnten Eigenschaften besitzen, von verschiedenen Forschern einstimmig die Fähigkeit zugeschrieben, die Lochung des Käses zu bewirken. Am deutlichsten wird dies von Weigmann (XIII) in folgenden Worten ausgedrückt: „wir dürfen alle Mikroorganismen, welche den Milchzucker unter Entwickelung größerer Mengen Kohlensäure direkt oder indirekt vergären, zu den Käseblähern zählen. Die Lochung der Käse scheint auf den gleichen Faktoren zu beruhen, nur mit dem Unterschiede, daß hier die Gasbildung eine geringere ist“. Darnach muß ein vor ca. 2 Jahren gemachter Versuch, „den Erreger κατ᾽ ἐξοχὴν der richtigen Lochbildung“ zu finden, als ein im Prinzip schon verfehlter betrachtet werden. Die These „Die Bildung der Löcher in den Hartkäsen wird der Hauptsache nach nur durch einen Bacillus bewirkt“ widerspricht sowohl allen bisherigen Erfahrungen, als auch den biologischen Naturgesetzen. Die Frage nach den Ursachen und Erregern der Lochung, sowie der Blähung der Käse ist dank den Untersuchungen von Adametz, Duclaux, v. Freudenreich und Weigmann sehr gründlich erforscht und was den gegenwärtigen Stand unserer Kenntnisse auf diesem Gebiete anbelangt, so muß hier von einer Schilderung desselben abgesehen werden, da dies schon in der bekannten Adametz'schen Studie „Ueber die Ursachen und Erreger der abnormalen Reifungsvorgänge beim Käse 1893“ in vortrefflicher Weise geschehen ist.

Wie aus dem im Abschnitt „Chemie des Käsereifungsprozesses“ Geschildertem hervorgeht, ist die Zersetzung des Kaseïns einer der wichtigsten Vorgänge bei der Reifung des Käses. Da in dem Cantalkäse diese Zersetzung eine bedeutend intensivere ist, weshalb auch der „Reifungsgrad“ in diesem Käse ein viel höherer ist, als in den typischen Hartkäsen (Gruyère), so hat Duclaux die Erreger dieses Zersetzungsprozesses vor allem in dem Cantalkäse gesucht. Duclaux hat nun aus Cantalkäsen eine Reihe von Mikroorganismen gezüchtet und studiert, welchen samt und sonders die Fähigkeit zukommt, in der Milch ähnliche Veränderungen hervorzurufen, wie die bei der Reifung des Käses stattfindenden, und welche namentlich vor allem die wichtige Eigenschaft besitzen, das Kaseïn zu peptonisieren. Nur einige derselben sind nebenbei mit der Fähigkeit ausgestattet, auch den Milchzucker anzugreifen, u. zw. von den Aëroben nur Tyrothrix scaber, von den Anaëroben Tyrothrix claviformis und Tyrothrix catenula. Die erstere Art bildet neben peptonartigen Stoffen, Leucin, Tyrosin und essigsaurem Ammoniak, auch Aethylalkohol, ein Gemisch höherer Alkohole, Kohlensäure und Wasserstoff. Die Menge des von diesem Mikroorganismus gebildeten Alkohols entspricht der Gleichung der alkoholischen Gärung des Milchzuckers. Die zweite Spezies (Tyrothrix catenula) greift nur den gelösten

Teil des Kaseïns („caséine dissoute") an und verwandelt denselben unter Bildung von Leucin, Tyrosin, Buttersäure und buttersaurem Ammon in eine Art Acidalbumin, während die Hauptmenge des Kaseïns ausgefällt und weiter nicht zersetzt wird. Diese letztere Spezies bleibt zunächst auf den Milchzucker ohne Einwirkung; jedoch im weiteren Verlaufe der Gärung wird von diesem Mikroorganismus auch der Milchzucker, wenigstens teilweise, angegriffen.

Die übrigen kaseïnzersetzenden Mikroben (T. tenuis, T. filiformis, T. distortus, T. geniculatus, T. turgidus) entbehren der Fähigkeit, den Milchzucker in irgend welcher Weise anzugreifen. Von diesen aërobiotischen Bakterien besitzt T. tenuis die Eigenschaft, den milchsauren Kalk in kohlensauren Kalk umzuwandeln. Auch die fakultativ-anaërobiotische Art, Tyrothrix urocephalum, ein Fäulnisferment, welchem die Milch als Kulturboden besonders gut zusagt, läßt den in derselben enthaltenen Milchzucker unberührt und vermag auch milchsauren Kalk nicht anzugreifen. Diese Spezies zersetzt, ebenso wie die oben aufgezählten, einzig und allein das Kaseïn unter Bildung von Valeriansäure, Leucin, Tyrosin, einem dritten Amid und Ammoniak. Bezüglich der morphologischen Eigenschaften der hier erwähnten Duclaux'schen Tyrothrixarten, mag auf die schon zitierte Winkler'sche (XLI) Arbeit hingewiesen werden. Es ist aus derselben namentlich hervorzuheben, daß Winkler einigen von diesen Mikroorganismen u. zw. namentlich dem Tyrothrix tenuis eine außerordentlich hoch entwickelte Variabilität und Anpassungsfähigkeit an verschiedene Nährböden zuschreibt. Nach Winkler differenziert sich Tyrothrix tenuis durch fortgesetzte Züchtung in 1) ein peptonisierendes, 2) ein stark gärendes, Milchzuckergelatine nicht verflüssigendes Milchsäurebakterium und 3) ein Pigmentbakterium. Allen von Winkler gezüchteten Varietäten des Duclaux'schen Tyrothrix tenuis ist die Fähigkeit gemeinsam, in der Milch kultiviert Lab auszuscheiden und das Kaseïn zu peptonisieren. In dem Maße aber, wie die Milchsäurebildung und Gasentwickelung hervortritt, nimmt die Fähigkeit der Lababscheidung und der Peptonisierung des Kaseïns bei Tyrothrix tenuis ab.

Die von Duclaux studierten Mikroorganismen leben demnach auf Kosten des Kaseïns oder der verschiedenen Zersetzungsstufen desselben. Tyrothrix tenuis lebt auf Kosten von noch unzersetztem Kaseïn und besitzt daher auch die Eigenschaft, in einer Salzlösung suspendiertes Kaseïn allmälig aufzulösen; für Tyrothrix catenula wird das Kaseïn erst zuträglich, nachdem es unter dem Einflusse eines von Duclaux „Casease" genannten Fermentes in „Caseone" umgewandelt worden ist. Tyrothrix virgula vermag das Kaseïn erst dann anzugreifen, nachdem es schon soweit zersetzt ist, daß daraus eine dem Fleischextrakt ähnliche Substanz geworden ist. Nach einer noch tiefer gehenden Zersetzung wird das Kaseïn in eine gelatineartige Masse verwandelt und nur in diesem Zustande wird es noch weiter von Tyrothrix scaber zersetzt.

Es beteiligt sich demnach an dem allmäligen Zerfalle des Kaseïnmoleculs eine ganze Reihe von Mikroorganismen, von denen die einen dabei Produkte bilden, welche den anderen zu gute kommen.

Von diesen Mikroorganismen sind einige an das Leben bei Luftzutritt gebunden, die anderen sind Anaërobier. Unter diesen beiden Gruppen von Bakterien existiert nach Duclaux eine Art von Symbiose. Die Anaërobier bilden Gase und unterstützen dadurch die Lebensthätigkeit der Aërobier, indem diese Gase das von den Aërobiern gebildete kohlensaure Ammoniak mitreißen und wegführen. Die Aërobier scheiden andererseits Fermente aus, welche den Anaërobiern zu gute kommen; gleichzeitig fördern sie das Leben der Anaërobier auch dadurch, daß sie den Sauerstoff absorbieren. Die Anaërobier sind für den normalen Reifungsprozeß des Käses noch in einer anderen Beziehung wertvoll: sie bilden Fettsäuren (welche, zum Unterschied von Aëroben, durch gebildetes Ammoniak nicht gesättigt werden) und verleihen dadurch der frischen Käsemasse einen eigentümlichen Geruch und sauren, guten Geschmack. Andererseits können sie auch wie oben bemerkt wurde, Käseblähungen verursachen. Der im Käse unter dem Einflusse von anaërobiotischen Bakterien auftretende Geruch kann auch unter Umständen dadurch verursacht werden, daß aus dem von diesen Bakterien entwickeltem Wasserstoff und den im Käse enthaltenen Schwefel und Phosphor, Schwefelwasserstoff und Phosphorwasserstoff entstehen.

Bezüglich des Reifungsprozesses der Hartkäse (Emmenthaler und Gruyère) ist aus den Duclaux'schen Untersuchungen Folgendes zu entnehmen:

Wie schon oben erwähnt wurde, besteht nach Duclaux der Reifungsprozeß der Hartkäse in zwei nacheinanderfolgenden Gärungen. Die erste Gärung („fermentation initiale“) beginnt sofort, nachdem der Käse aus der Presse gekommen ist und besteht in einer Umwandlung des Milchzuckers durch anaërobe gasbildende Mikroben hauptsächlich zu Milchsäure (XXVII, 313). Diese Gärung hat die Lochung des Käses zur Folge und wird durch das Salzen desselben bedeutend verlangsamt. Nachdem der Käse nach einer gewissen Zeit in einen feuchteren und kälteren Raum gebracht ist, ist gewöhnlich die Milchsäuregärung schon beendet und erst dann beginnt die eigentliche Reifung: die Thätigkeit der peptonisierenden Bakterien, welche dem frischen Quark die bekannte gelbe Farbe und die gleichförmig reife Beschaffenheit des Käses erteilen und deren Entwickelung durch eine zu stark saure Reaktion des Nährmediums gehemmt wird. Bekanntlich reifen die Hartkäse bedeutend langsamer als die Weichkäse. Diesen Unterschied glaubt Duclaux dadurch erklären zu müssen, daß in den Hartkäsen (Gruyère und namentlich Parmesan- und Grana de Reggio-Käse) die Bakterien weniger zahlreich und nicht so gleichmäßig in der ganzen Käsemasse verteilt sind, wie in den Weichkäsen. Dementsprechend fand auch Duclaux in Hartkäsen einen sehr geringen Reifungsgrad (XXVII, 317), woraus er schließt, daß bei der Reifung dieser Käse das Kaseïn nur in sehr unbedeutendem Maße angegriffen wird. Die Reifung der Hartkäse erfolgt nach Duclaux hauptsächlich durch Diffusion der von Bakterien ausgeschiedenen Fermente (Casease). Die Gärung ist in diesen Käsen keine in der ganzen Masse gleichmäßige. Von denjenigen Stellen aus, welche der stärksten Kaseïnzersetzung anheimfallen, wandern (diffun-

dieren) die Eiweißzersetzungsprodukte, imprägnieren die ganze Käsemasse und erteilen dem Käse den ihm eigentümlichen Geschmack und Geruch.

In einer besonderen Art und Weise gestaltet sich die Reifung der unter dem Einflusse von Schimmelpilzen reifenden Käsesorten. Auch diese Frage wurde in den Duclaux'schen Untersuchungen berührt, wobei sich ebenfalls Unterschiede in dem Verlaufe der Reifung verschiedener Käsesorten dieser Gruppe herausstellten. Der Roquefort-Käse reift z. B. unter dem Einflusse des Schimmelpilzes penicillium glaucum, während die Reifung des Briekäses die Aufeinanderfolge von zwei verschiedenen Mikrobenarten voraussetzt (XXVII, 351). Zunächst tritt im Briekäse penicillium glaucum auf und wirkt für die darauffolgenden Mikroben gewissermaßen vorbereitend ein; später beginnt unter dem Einflusse von aëroben Bakterien eine Eiweißzersetzung; die von diesen Bakterien ausgeschiedene Casease imprägniert die Käsemasse, welche dadurch gelblich und durchsichtiger wird. Der Reifungsprozeß schreitet in diesen Käsesorten von außen nach innen, während derselbe in anderen Käsen (Hartkäse, Cantal etc.) nach Duclaux sich vollkommen gleichmäßig gestaltet.

Eine wesentliche Förderung unserer Kenntnisse in Bezug auf die Erreger der chemischen Umsetzungen, welche bei dem Reifungsprozeß des Käses stattfinden, erfuhr die Wissenschaft dank den Untersuchungen von Adametz, dessen Ergebnisse namentlich in der Arbeit „Bakteriologische Untersuchungen über den Reifungsprozeß der Käse", Landw. Jahrbücher XVIII (1889), p. 227—269 geschildert worden sind. Adametz untersuchte die quantitativen Veränderungen, welche die bakteriologische Flora im Emmenthaler sowie im Hauskäse im Laufe der Reifung erfährt, er züchtete aus diesen Käsen in Reinkultur 19 verschiedene Spaltpilzarten und 3 Hefespezies (Torulaarten), untersuchte ihre morphologischen und physiologischen Eigenschaften und erklärte den Zusammenhang derselben mit den Reifungserscheinungen der Käse. Schließlich erklärte Adametz den Zusammenhang zwischen der Ausbildung der sog. Speckschichte und dem Luftzutritt.

Die von Adametz beschriebenen Bakterien lassen sich in Bezug auf ihren Einfluß auf die Reifung der Käse in drei Gruppen einteilen. ich lasse hier die von Adametz angegebene Einteilung im Wortlaute folgen:

a) solche, welche das Parakaseïn entweder zu lösen oder aber in einen eigentümlichen Quellungszustand zu verwandeln vermögen. Es entstehen hierbei stets in größerer oder geringerer Menge lösliche Eiweißkörper und Peptone, meist begleitet von Spuren von riechenden (z. B. Buttersäure) und schmeckenden (z. B. bittere Extraktivstoffe) Verbindungen;

b) solche, welche sich in sterilisierter Milch nur mangelhaft entwickeln und für welche unverändertes Parakaseïn kein günstiger Nährboden ist. Leicht assimilierbar sind für sie hingegen jene aus dem Parakaseïn durch die Thätigkeit der vorerwähnten Gruppe hervorgegangenen Substanzen;

c) endlich solche, welche auf keinen der hier in Betracht kommenden Nährstoffe energisch einwirken können, deren Vorhandensein oder Fehlen im Gegensatz zu den unter a) und b) angeführten Bakterien, ohne jeden Einfluß auf den Käsereifungsprozeß ist.

Wie die Untersuchungen von Adametz gezeigt haben, kommt den peptonisierenden Bakterien beim Reifungsprozeß des Käses die Hauptrolle zu. Eine Reihe von Bacillen, welche Adametz beschrieben hat, besitzt die Fähigkeit, das Kaseïn der Milch zu fällen und es unter Bildung peptonartiger Verbindungen entweder vollständig zu lösen, oder es in einen eigentümlich weichgallertartigen Zustand zu versetzen, einen Zustand, welcher der Beschaffenheit der weichen Speckschicht reifer Käse (namentlich der Hauskäse) ganz ähnlich ist. Zur Ausbildung der Speckschicht ist Luftzutritt unbedingt notwendig. Einen Beweis für die Richtigkeit dieser Behauptung, d. h., daß die Umwandlung des Parakaseïns in einen weichen, gleichsam gequollenen Zustand nur bei Gegenwart von Luft vor sich geht, lieferte Adametz, indem er zeigte, daß in einem mit einer Paraffinhülle umgebenen Käse die Anlage einer Speckschicht vollkommen ausbleibt, trotzdem Lochbildung unter dem Einflusse von Spaltpilzen darin stattgefunden hatte. Diese Thatsache kann nur dadurch erklärt werden, daß zur Ausbildung der Speckschicht die Gegenwart von peptonisierenden Bakterien notwendig ist, welche, als echte Aërobier, nur bei Luftzutritt zu wachsen und ihre Thätigkeit zu entfalten vermögen. Das ist auch der Grund, weshalb in den ersten Stadien des Reifungsprozesses des Emmenthaler Käses, in welchen der Luftzutritt beschränkt ist, die Zahl der verflüssigenden Bakterien verhältnismäßig gering ist. Ihre Vermehrung beginnt erst, nachdem der Käse im weiteren Verlaufe der Reifung infolge der Lochbildung gewissermaßen luftzügiger geworden ist. Die Bakterien der zweiten Gruppe, die auf die Bestandteile der Milch ohne Einwirkung bleiben, haben die Aufgabe, die von den Bakterien der ersten Gruppe erzeugten Stoffe aufzunehmen und weiter zu verarbeiten, wodurch die Anhäufung gewisser den Spaltpilzen der ersten Gruppe schädlicher Stoffwechselprodukte verhindert wird. Nach Adametz nehmen die Bakterien der zweiten Gruppe wahrscheinlich an der Produktion gewisser den Geschmack oder den Geruch verschiedener Käsesorten bedingender Stoffe teil. Die von Adametz auf Grund einer eingehenden bakteriologischen Untersuchung aufgestellten Grundsätze und Behauptungen wurden durch direkte Versuche an Käsen, die aus mit verflüssigenden Fäulnisbakterien infizierter Milch hergestellt worden waren, bestätigt. Eine weitere Bestätigung erfuhren die Adametz'schen Untersuchungen durch die Versuche Weigmanns (XIX, 227), welchem es gelang, den Käsereifungsprozeß durch Zusatz einer Kultur einer Casease ausscheidender und somit das Kaseïn peptonisierender Bakterie zu der zu verkäsenden Milch zu beschleunigen. Auch durch direkten Zusatz des von Weigmann isolierten Duclaux'schen Fermentes (der Casease) zur Milch vermochte Weigmann die Reifung des Käses zu beschleunigen.

Wie aus dem oben Dargelegten hervorgeht, beweisen die bahnbrechenden Untersuchungen von Adametz im Einklang mit den auf

bemerkenswertem und eigenartigem Wege und nach den Methoden der französischen bakteriologischen Schule ermittelten Ergebnissen von Duclaux, daß die Reifung der Käse der Hauptsache nach von solchen Bakterien bewirkt wird, welche durch Ausscheidung von Fermenten (der „Casease") das Kaseïn mehr oder weniger lösen oder es wenigstens in einen weichgallertartigen Zustand überführen.

Einen eigenartigen Standpunkt in Bezug auf die Ursachen der Reifung des Käses (des Emmenthalers) vertritt v. Freudenreich. Schon in einer seiner ersten Arbeiten aus diesem Gebiete (XVIII) teilt v. Freudenreich die Beobachtung mit, daß sich in aus pasteurisierter Milch hergestelltem Käse entweder keine Bakterien entwickeln oder nur Milchsäurefermente, welche nach v. Freudenreich überhaupt im Käse in sehr großer Anzahl vorkommen, jedoch „kaum die alleinigen Erreger des eigentlichen Reifungsprozesses sein dürften". In einer ganzen Reihe von Käsen, welche zu verschiedenen Zeiten der Reifungsperiode auf ihre Bakterienflora untersucht wurden, fand v. Freudenreich meist Milchsäurefermente, während verflüssigende Kolonieen im Verhältnis zu denselben stets eine Seltenheit blieben. Ferner beobachtete v. Freudenreich, daß die verflüssigenden Bakterienarten, wenn sie überhaupt vorhanden waren, sehr schnell verschwanden, während die Milchsäurefermente sich im Käse stark zu vermehren schienen und zwar oft schon in den allerersten Tagen. In ganz alten Käsen hat v. Freudenreich ohne Ausnahme, abgesehen von bereits in Fäulnis übergegangenen Stellen, sehr wenige Bakterien gefunden. Die v. Freudenreich im Käse in großer Zahl gefundenen Milchsäurefermente sind dadurch charakterisiert, daß sie in zuckerhaltigen Lösungen Milchsäure bilden (was ihre Hauptfunktion ist) und sterilisierte Milch rasch zum Gerinnen bringen, wobei das Coagulum kompakt erscheint und sich später nicht mehr verändert. Die Gelatine verflüssigen sie nicht. Die von v. Freudenreich eingehender untersuchten Milchsäurefermente (Bacillus α, Micrococcus a, Micrococcus b), die, wie oben erwähnt, daß Kaseïn intakt lassen, bleiben, wie direkte Versuche gezeigt haben, auch auf die Reifung des Käses ohne Einfluß. Ein verflüssigender Micrococcus schien zwar in gewissen Fällen an dem Reifungsvorgange beteiligt zu sein, jedoch sicher konnte dessen Einfluß auf die Reifung des Käses nicht bewiesen werden.

In der hier herangezogenen v. Freudenreich'schen Arbeit wird zwar den eigentlichen Milchsäurefermenten, d. h. solchen, welche das Kaseïncoagulum nicht peptonisieren, ein direkter Einfluß auf den Käsereifungsprozeß nicht zugeschrieben, jedoch glaubt v. Freudenreich, daß diese Mikroorganismen die Lochung des Käses verursachen — eine Ansicht, die auch von Duclaux (XXVII, 312, 313) geteilt wird —, und daß sie möglicherweise auch zu dem Aroma des Käses in Beziehung stehen, ähnlich den das Butteraroma bestimmenden Weigmann'schen Milchsäurebakterien. Schließlich spricht v. Freudenreich auch die Vermutung aus, „daß die Milchsäurefermente durch Bildung einer Kohlensäureatmosphäre das Auftreten anaërober Arten begünstigen, denen dann der eigentliche Reifungsprozeß zufiele". Ob anaërobe Bakterien diese Wirkung auch that-

sächlich auszuüben vermögen, konnte solange nicht entschieden werden, als noch die Frage offen blieb, ob Luftabschluß für den normalen Verlauf des Käsereifungsprozesses ein Hindernis bildet oder nicht. Diese Frage wurde daher von v. Freudenreich und Schaffer (XX) einer Untersuchung unterworfen, welche zu dem Ergebnis führte, daß der Käsereifungsprozeß auch bei vollständigem Luftabschluß in vollkommen normaler Weise stattfinden kann, woraus die Verff. weiterhin folgerten, daß „die Reifung ein in der ganzen Masse des Käses gleichzeitig auftretender Prozeß ist, und nicht etwa bloß von der Wirkung der von den auf der Oberfläche sich vermehrenden Bakterien gebildeten Enzyme herrührt". Es mag hier nebenbei hervorgehoben werden, daß von den drei bei vollständigem Luftabschluß gehaltenen Versuchskäsen, deren Reifungsgrad nach Verlauf von ca. 10 Wochen von v. Freudenreich und Schaffer mittels der chemischen Analyse bestimmt wurde, zwei Blähungserscheinungen und der dritte eine normale Lochung aufwies. Die bakteriologische Untersuchung dieser drei Käse lehrte, daß sie fast lauter Milchsäurefermente enthielten. Interessant ist auch die Thatsache, daß der dritte (nicht geblähte) Käse, welcher 3 Tage im Salzwasser gelegen hatte, den beiden anderen bezüglich der Reifung nachstand, was nach v. Freudenreich und Schaffer wahrscheinlich dem Einfluß des Salzwassers zuzuschreiben ist.

Vergleicht man die von v. Freudenreich und Schaffer mitgeteilten Beobachtungen mit den Resultaten der Adametz'schen Arbeit, so muß geschlossen werden, daß möglicherweise auch anaërobe gasbildende Mikroorganismen existieren, welche das Vermögen besitzen, das Kaseïn zu lösen oder es wenigstens in einen eigentümlich weichgallertartigen Zustand zu versetzen.

Daß aërobe peptonisierende und somit die Reifung beeinflussende Bakterien existieren, kann in Anbetracht der Ergebnisse der Adametz'schen Untersuchungen, die allseits eine Bestätigung gefunden haben, nicht bestritten werden. Echten Michsäurefermenten, die angegebenen Wirkungen ohne Weiteres zuzuschreiben, wäre allerdings etwas gewagt. Es kämen noch anaërobe Gasbildner aus der Gruppe der Buttersäuregärungserreger in Betracht; ob dieselben auf die Reifung des Käses einzuwirken imstande sind, wurde an Versuchskäsen von Niemandem bis jetzt zu beobachten versucht; auch wissen wir nicht, ob die Buttersäurebakterien in der Milch kultiviert auf das Kaseïn lösend einzuwirken vermögen. Es sind dies Fragen, die bis dahin ihrer Lösung harrten und die ich an einem neuen und — man kann das wohl mit Recht behaupten — typischen Buttersäurespaltspilz zu studieren versucht habe.

In einer jüngst erschienenen Arbeit teilt v. Freudenreich (XXXIV) die Resultate einer ganzen Reihe von eingehenden Untersuchungen mit, welche sich auf die Erreger des Reifungsprozesses des Emmenthaler Käses beziehen. Diese Arbeit verdient eine besondere Berücksichtigung namentlich aus dem Grunde, weil darin eine Anschauung vertreten ist, welche einerseits sich auf eine große Anzahl von Versuchen und langjähriger Beobachtungen stützt, andererseits aber unseren bisherigen Ansichten über den Käsereifungsprozeß widerspricht.

Eine ausführliche bakteriologische Untersuchung verschiedener Käsearten führte v. Freudenreich in Uebereinstimmung mit seinen früheren Befunden zunächst zu dem Ergebnis, daß die vielfach als Hauptfaktor bei der Reifung des Käses angesehenen, die Gelatine verflüssigenden peptonisierenden Bakterien (Tyrothrixarten, Kartoffelbacillen, Heubacillen) im Käse sehr spärlich, meistens sogar nur vereinzelt vorkommen und sich darin kaum vermehren. Auch in Weichkäsen (XXXIV, 219) scheinen die verflüssigenden Bacillen keineswegs eine Vermehrung zu erleiden, woraus sich ergiebt, daß sie wahrscheinlich bei der Reifung nicht wesentlich beteiligt sind. In Weichkäsen fand v. Freudenreich hauptsächlich Milchsäurefermente, Hefen und Oidium lactis. Hefeformen sind, nach v. Freudenreich, so zahlreich, „daß ihre Mitwirkung am Reifungsprozesse kaum bezweifelt werden kann“. Während die Milchsäurefermente sich im Emmenthaler Käse sehr rasch vermehren, verschwinden künstlich zugesetzte verflüssigende Bacillen dagegen sehr bald, außer wenn sie in Sporenform dem Käse einverleibt wurden, in welchem Falle sie länger am Leben bleiben, jedoch ohne sich zu vermehren. Aus diesen Thatsachen schließt v. Freudenreich, daß es sehr wenig wahrscheinlich ist, daß den verflüssigenden Bacillen bei der Reifung des Käses irgend eine bedeutende Rolle zukomme. Direkte Beobachtungen an Versuchskäsen, die aus mit verschiedenen verflüssigenden Bacillen, sowie mit einigen Duclaux'schen Tyrothrixarten geimpfter, vorher pasteurisierter Milch hergestellt waren, ergaben negative Resultate: ein Einfluß der verflüssigenden Bakterien auf die Reifung des Käses war nicht zu beobachten. Auch glaubt v. Freudenreich (XXXIV, 231) aus dem Umstande, daß die verflüssigenden Bacillen besonders bei Luftzutritt gedeihen, schließen zu müssen, daß sie schwerlich an der Reifung des Käses einen hervorragenden Anteil nehmen, da im Innern der Käsemasse für die Aerobiose wenig günstige Bedingungen vorliegen. Welcher Art sind nun die den Käsereifungsprozeß beeinflussenden Bakterien? v. Freudenreich nimmt nun zwei verschiedene Eventualitäten in Erwägung. Entweder sind es die Milchsäurefermente, vielleicht unter Mitwirkung der im Anfangsstadium stets vorhandenen verflüssigenden Mikrokokken, oder es existiert eine noch nicht kultivierte anaërobe Bakterienspecies, welche die Reifung des Emmenthaler Käses verursacht. v. Freudenreich schließt sich der ersten Vermutung an, indem er sagt: „wahrscheinlicher scheint mir jedoch zu sein, daß die Milchsäurefermente es sind, welchen die Hauptrolle bei der Reifung zukommt“. Aus allen seinen Beobachtungen und Untersuchungen zieht v. Freudenreich den Schluß, „daß verschiedene Milchsäurefermente bei der Reifung die Haupt-, wenn nicht sogar die alleinige Rolle, wenigstens bei den Emmenthaler Käsen, spielen. In den Weichkäsen dagegen nehmen Oidium lactis und auch Hefen an der Reifung Anteil“. Zur Bekräftigung der in seiner Arbeit dargelegten Anschauungen citiert v. Freudenreich eine neuere Arbeit von Lloyd, deren Verf. auf Grund von Untersuchungen über den Reifungsprozeß des Cheddarkäses zu ähnlichen Ansichten wie die v. Freudenreich'schen gelangt ist. Lloyd soll nämlich ge-

funden haben, daß in dem Cheddarkäse gegenüber den Milchsäurefermenten die Zahl der übrigen Bakterienarten eine verschwindend kleine ist und er beschreibt einen Milchsäurebacillus, der für die Reifung dieser Käsevarietät einzig verantwortlich gemacht werden kann.

Die Ergebnisse der v. Freudenreich'schen Arbeit stehen in krassem Widerspruche mit den bisherigen Anschauungen über den Reifungsprozeß des Käses. Wie bekannt, erfährt das Kaseïn während der Reifung des Käses eine tiefgreifende Zersetzung. Unter dem Einflusse der Milchsäurebakterien, denen v. Freudenreich die „Haupt-, wenn nicht sogar die alleinige Rolle wenigstens bei den Emmenthaler Käsen" zuschreibt, wird jedoch das Kaseïn, wenigstens in der Milch, nicht zersetzt. Um nun diesen Widerspruch zu beseitigen, greift v. Freudenreich zu einer Hypothese, indem er sagt, daß es „nicht ausgeschlossen ist, daß unter anderen Umständen, besonders auch bei Abschluß der Luft, die von den Milchsäurefermenten bewirkten chemischen Aenderungen zu tiefer gehenden Zersetzungen des Kaseïns, wie solche bei der Reifung stattfinden, sich gestalten können".

In der erwähnten letzthin erschienenen Arbeit von Winkler (XLI) ist ein Versuch gemacht worden, den Widerspruch zwischen den v. Freudenreich'schen Ergebnissen und den Resultaten, die von anderen Forschern erhalten worden sind, in etwas anderer Weise zu beseitigen. Winkler fand nämlich, daß der peptonisierende Mikroorganismus Tyrothrix tenuis durch einen geringen Milchzuckergehalt des Nährbodens stark abgeändert und in ein gärendes, Milchsäure produzierendes Bakterium verwandelt werden kann. Auch vermochte Winkler bei anderen Tyrothrixarten (Tyrothrix urocephalum) verschiedene Varietäten zu unterscheiden, von denen die einen stark gärend, die anderen stark peptonisierend wirkten. Schließlich fand Winkler, daß Bacillus XVI Adametz durch Züchtung in Gelatine seine Wirkungsweise in Milch vollständig geändert hat, indem aus einem vorwiegend oder ausschließlich Milchsäure produzierenden durch Anpassung ein stark peptonisierendes Bakterium geworden ist. Auf Grund dieser Thatsachen spricht Winkler die Vermutung aus, daß gewisse peptonisierende Bakterien sich im Käse in Milchsäurebakterien verwandeln, resp. die Eigenschaft der Milchsäurebildung stärker entwickeln. Dies würde dann auch erklären, weshalb bei der Käsereifung, nach den Resultaten der chemischen Analyse sowie nach den Ergebnissen einer Reihe von Forschern zu urteilen, die peptonisierenden Bakterien die Hauptrolle spielen, während bei der bakteriologischen Untersuchung der reifen Hartkäse Milchsäurebakterien in bei weitem überwiegender Zahl gefunden werden.

Es ist eine bekannte Thatsache, daß reifer Käse mehr oder weniger große Mengen von Buttersäure enthält. Besonders reich an Buttersäure ist der Käse, wenn er überreif geworden ist und alsdann giebt sich der hohe Gehalt an Buttersäure durch den bekannten penetranten Geruch kund. Alter Quargelkäse riecht einfach nach

Buttersäure. Das Auftreten wachsender Mengen von Buttersäure parallell mit dem Fortschreiten des Reifungsprozesses der Käse weist auf einen gewissen Zusammenhang dieser Erscheinungen hin und in welchem Maße dieser Zusammenhang seit jeher in die Augen springen mußte, beweist die Thatsache, daß die erste Hypothese, welche über das Wesen des Käsereifungsprozesses ausgesprochen worden ist, in der Buttersäuregärung den Schlüssel zur Erklärung der Ursachen dieses Prozesses erblickte. Bekanntlich war der berühmte Botaniker und Bakteriologe, Ferdinand Cohn (II), der erste, welcher im Jahre 1875 auf den Zusammenhang der Käsereifung mit der Lebensthätigkeit von Bakterien hinwies, indem er das Reifen des Käses für eine „echte Gärung, welche unter dem Einflusse von Fermentorganismen vor sich geht" erklärte. Nun sprach Cohn die Vermutung aus, daß diese Gärung in einer Umwandlung des Milchzuckers zu Buttersäure bestehe. In seiner in den „Beiträgen zur Biologie der Pflanzen" erschienenen Arbeit äußert sich Cohn über diesen Gegenstand folgendermaßen:

„Welche chemischen Vorgänge während der Käsegärung stattfinden, liegt außer meiner Aufgabe zu untersuchen; nur die Vermutung möchte ich aussprechen, daß es vorzugsweise die im Käselaib zurückgehaltene Molkenflüssigkeit ist, deren Milchzucker zunächst durch die Zymophyten in Buttergärung versetzt wird."

In jener Zeit, in welcher Cohn obige Zeilen schrieb, waren die Kenntnisse über die Buttersäuregärung und über ihre Erreger noch recht dürftig. Man verstand unter Buttersäuregärung die Umwandlung der aus Milchzucker entstandenen Milchsäure (bezw. des milchsauren Kalkes) in Buttersäure (bezw. buttersauren Kalk) unter dem Einflusse des von Pasteur beschriebenen „vibrion butyrique" und man wußte nicht, daß es eine ganze Reihe von Arten der Buttersäuregärung (bezw. der Erreger derselben) giebt und daß die Buttersäure sehr häufig als Nebenprodukt verschiedener Gärungen aufzutreten pflegt. Es kann uns daher nicht Wunder nehmen, daß Cohn den Milchzucker (bezw. die daraus gebildete Milchsäure) als Quelle der im Käse enthaltenen Buttersäure betrachtete, obgleich, wie wir heute wissen, auch andere Stoffe bei ihrer Vergärung Buttersäure liefern können. Der Zusammenhang der Reifung des Käses mit der Vergärung der Milchsäure zu Buttersäure, wie er seit altersher beobachtet wurde, ergiebt sich auch daraus, daß man schon seit Jahren zur Produktion von Buttersäure alten Käse benutzte, welcher das zur Vergärung der Milchsäure nötige „Ferment" liefern sollte.

Daher kommt es auch, daß Fleischmann und v. Klenze in ihren Lehrbüchern auf die Rolle der Buttersäuregärung bei der Käsereifung hinwiesen, ohne jedoch Näheres darüber mitzuteilen. Einen weiteren Schritt auf diesem Gebiete machten später Benecke und Schulze (X), indem sie das Auftreten von Buttersäure im reifenden Käse chemisch nachwiesen und drei Quellen der Buttersäurebildung: die Milchsäure, das Parakaseïn und das Fett in Erwägung nahmen. Welcher von diesen Stoffen zu einer Buttersäuregärung im reifenden Käse Anlaß giebt, und unter welchen Umständen dies geschieht, vermochten jedoch die soeben citierten Forscher, die sich nur mit der Unter-

suchung der chemischen Zusammensetzung der Käse befaßten, nicht zu entscheiden, geschweige denn den oder die Erreger dieser chemischen Umsetzung aufzufinden. Nach Duclaux kann die Buttersäure im reifenden Käse sowohl bei der Spaltung der Fette (auch ohne Vermittelung von Mikroorganismen), als auch bei der Zersetzung der Eiweißstoffe sowie des Milchzuckers unter dem Einflusse von Bakterien entstehen. Was die Verseifung des Fettes anbelangt, bei welcher Buttersäure entsteht, so erfolgt dieselbe im reifenden Käse nach Duclaux gewöhnlich nur in sehr beschränktem Maße. Ist sie jedoch stärker, als das gewöhnlich der Fall zu sein pflegt, so verursacht sie den eigentümlichen in alten Käsen auftretenden Geschmack und Geruch nach Buttersäure (XI, 287—288). Nach Maggiora (XXII) werden bei der Ueberreifung des Käses auch die Fette zersetzt, wobei sich große Mengen freier Fettsäuren (Buttersäure) bilden. Bei der Zersetzung des Milchzuckers kann gleichfalls Buttersäure (mittelbar, d. h. aus Milchsäure, welche aus dem Milchzucker gebildet wurde) entstehen. Bekanntlich unterliegt der Milchzucker schon im Käsequark einer Gärung (fermentation initiale). Diese Gärung kann nach Duclaux den Charakter einer alkoholischen Gärung, einer Milchsäure- oder einer Buttersäuregärung tragen.

Unter Buttersäuregärung versteht hier Duclaux (XXVII, 65—69, 280) die Umwandlung des milchsauren Kalkes in buttersauren Kalk unter dem Einflusse des Pasteur'schen „vibrion butyrique“. Andere Gärungen, bei welchen Buttersäure als Nebenprodukt entsteht, wie das so häufig der Fall ist, sollte man nach Duclaux nicht als Buttersäuregärungen bezeichnen. Bei der Reifung des Kantalkäses, welcher von Duclaux in der eingehendsten Weise studiert worden ist, wird der Milchzucker gleich im Anfange der Gärung angegriffen. Ein Teil desselben wird verbrannt, ein anderer Teil wird in Milchsäure umgewandelt. Die aus dem Milchzucker entstandene Milchsäure wird zum Teil durch die alkalischen Salze der Milch neutralisiert, zum Teil aber in Buttersäure umgewandelt (XI, 275). Schließlich kann die Buttersäure nach Duclaux auch bei der Zersetzung des Kaseïns entstehen. Es können somit nach Duclaux alle drei von Benecke und Schulze (s. o.) in Erwägung genommenen Stoffe: die Milchsäure (mittelbar der Milchzucker, aus welchen die Milchsäure entsteht), das Fett und das Kaseïn, unter Umständen zu einer Buttersäuregärung Anlaß geben. In welchen Fällen und namentlich unter welchen Umständen jeder der drei vorerwähnten Stoffe das Material zur Bildung von Buttersäure liefert, in welcher Beziehung ferner die Buttersäuregärung zur Käsereifung steht und wie sich die verschiedenen Käsesorten dabei verhalten, — dies sind Fragen, die nur mit Hilfe der Bakteriologie entschieden werden können. Allein bis jetzt sind die oben erwähnten Fragen einer systematischen bakteriologischen Untersuchung nicht unterworfen worden und in der bereits umfangreich gewordenen Literatur über den Käsereifungsprozeß finden sich hierüber nur wenige vereinzelte Beobachtungen. Auch diese verdanken wir den um die Begründung der bakteriologischen Molkereiwissenschaft so verdienstvollen Forschern: Adametz, Duclaux und Weigmann.

In seinen Studien über den Reifungsprozeß des Kantalkäses beschreibt Duclaux nur einen einzigen bei der Reifung beteiligten Mikroorganismus, welcher aus den Milchbestandteilen Buttersäure zu bilden imstande ist. Es ist dies ein gas- und sporenbildender anaërobiotischer Bacillus (Tyrothrix catenula), welcher in morphologischer und physiologischer Beziehung dem Pasteur'schen Buttersäureferment (vibrion butyrique) ähnelt, jedoch trotzdem von ihm in einigen wesentlichen Eigenschaften verschieden ist. Tyrothrix catenula entwickelt sich nicht in Lösungen von milchsaurem Kalk, den Milchzucker vergärt er nur teilweise und nur in späteren Stadien der Gärung und die von ihm produzierte Buttersäure entstammt einer Zersetzung des gelösten Kaseïns.

In seinen klassischen Untersuchungen über den Reifungsprozeß der Käse betont Adametz (XII), daß er den Pražmowski'schen Buttersäurebacillus, Clostridium butyricum, nur ein einziges Mal in einer von der Nähe eines alten Bohrloches entnommenen Probe des überreifen Emmenthaler Käses aufzufinden vermochte. Dagegen fand Adametz, daß zwei von ihm untersuchte das Kaseïn gallertartig fällende Bacillen (Bacillus XVI und B. XVII), von denen der eine (Bacillus XVI) der Milch in älteren Kulturen einen angenehmen Käsegeruch verleiht, während des Kaseïnlösungsprozesses geringe Mengen von Buttersäure produzieren. In ausgesprochenstem Maße kam jedoch diese Eigenschaft einem dritten von Adametz beschriebenem Bacillus (Bacillus XV) zu, welcher in sterilisierter Milch bereits schon nach 30—36 Stunden eine schleimig flockige Fällung des Kaseïns veranlaßt und später das Kaseïn im Laufe von ca. zwei Wochen fast vollkommen peptonisiert. In 8 bis 10 Tage alten bei 25° C gehaltenen Milchkulturen dieses Mikroben konnte Adametz einen penetranten Geruch nach Buttersäure wahrnehmen.

Im Jahre 1890 teilte Weigmann (XIII) in einem populärwissenschaftlichen Aufsatze einige Beobachtungen mit, welche sich auf die Lochbildung und Blähung der Käse beziehen. In diesem Aufsatze beschreibt Weigmann kurz drei Mikroorganismen, welche an der Lochbildung und Blähung beteiligt sind, wie sich Weigmann durch direkte Versuche an Backsteinkäsen und nach Edamer Art hergestellten Käsen überzeugen konnte. Diese Weigmannschen Bakterien besitzen die gemeinsame Eigenschaft, Buttersäure zu produzieren. Ihre speziellen physiologischen Merkmale charakterisiert Weigmann wie folgt:

1) eine Bakterie, welche aus Milchzucker Kohlensäure (sehr viel), Alkohol (wenig) und größere Mengen Buttersäure sowie Butylalkohol erzeugt;
2) eine Bakterie, welche scheinbar nur Buttersäure produziert u. s. w., ohne irgend welche Gasbildung;
3) eine Bakterie, welche keinen Alkohol, wohl aber Buttersäure bildet und daneben ein faulig riechendes jedoch schwefelwasserstofffreies Gas erzeugt.

Die Weigmann'schen Buttersäurebakterien sind leider zu knapp beschrieben worden, um sie mit anderen bekannten Species

vergleichen zu können. Außerdem wissen wir nur, daß sie auf die Lochbildung im Käse einen Einfluß ausüben. Zur Reifung des Käses scheinen sie jedoch in keiner Beziehung zu stehen. Es ist möglich, daß die Buttersäurebakterien (vielleicht nur einige Arten derselben) für die Entstehung des Käsearomas und des Käsegeschmackes von einiger Bedeutung sind. Darauf hat auch schon Duclaux hingewiesen, indem er darauf aufmerksam machte, daß die Anaërobier dadurch, daß sie freie Fettsäuren bilden (während viele im Käse lebende Aerobier mit gleichzeitig gebildetem Ammoniak neutralisierte Fettsäuren erzeugen), der frischen Käsemasse einen eigentümlichen Geruch und guten sauren Geschmack verleihen. Diese Idee wird nun in letzter Zeit auch von den Forschern der Kieler bakteriologisch-landwirtschaftlichen Versuchsstation aufgenommen und es werden daran weitere Hypothesen angeschlossen. Vor kurzem hat Baier, Assistent an dieser Versuchsstation, in dieser Zeitschrift (XXXIX) ein Sammelreferat über Buttersäuregärung veröffentlicht. In dieser Arbeit berichtet Baier u. A. über einige von Weigmann und ihm selbst ausgeführte und begonnene Untersuchungen über die Buttersäuregärung, ihre Erreger und die Beziehungen derselben zum Käsearoma.

Baier schließt nun seine diesbezüglichen Ausführungen mit folgendem Satze (XXXIX, 119): „Vielleicht sind die verschiedenen erhaltenen Käsearomas auch auf symbiotisches Verhalten der verschiedenen isolierten Bakterien und Hefen zurückzuführen, und bethätigen sich dabei auch die Buttersäurebakterien in reichlichem Maße? Wir setzen diese Versuche fort und hoffen später Näheres darüber berichten zu können.“ In demselben Aufsatze über die Buttersäuregärung spricht Baier (XXXIX, 120) eine noch bedeutend weitergehende Hypothese über die Rolle der Buttersäurebakterien bei der Reifung des Käses aus, indem er die Möglichkeit hinstellt, daß die Buttersäurebakterien einfach den Reifungsprozeß ins Leben rufen. Baier schreibt hierüber:

> „Vielleicht aber kommt doch bestimmten Arten derselben auch eine gute Eigenschaft zu, nämlich, daß dieselben berufen sind, bei der Käsereifung insofern eine wichtige Rolle zu spielen, als sie durch Bildung eines Fermentes den Reifungsprozeß ins Leben rufen, der, auf diese Weise dann eingeleitet, seinen weiteren Fortgang durch die Wirkung des Fermentes nimmt. Diese schon früher von H. Weigmann ausgesprochene Hypothese dürfte immer sichereren Boden gewinnen und harrt nur noch der vollen Bestätigung durch praktische Versuche.“

Von Hypothesen abgesehen, sind unsere positiven Kenntnisse über die Rolle der Buttersäuregärung bei der Käsereifung, wie sich aus dem oben Geschilderten ergiebt, noch sehr mangelhaft. Fleischmann faßt dieselben in seinem Lehrbuch der Milchwirtschaft 1893 auf p. 87 in folgenden Worten zusammen:

> „In allen ausgereiften Käsen läßt sich Buttersäure bald in größeren, bald in geringeren Mengen nachweisen. Auch sie ist ohne Zweifel nur zum kleinsten Teile durch Buttersäuregärung unmittelbar aus dem Milchzucker, sondern vielmehr zum größten Teile je nach der Käseart und den bei der Reifung beteiligten

Spaltpilzarten mittelbar aus anderen Stoffen: aus hydratisiertem Milchzucker, milchsauren Salzen, den Eiweißkörpern der Milch, dem Milchfett oder endlich aus dem durch Verseifung des Milchfettes gebildeten Glycerin entstanden."

Wie sehr jedoch auch diesen ganz allgemein gehaltenen Ausführungen eine feste experimentelle Basis fehlt, ergiebt sich daraus, daß auf p. 201 desselben „Lehrbuches" Fleischmann bei der Besprechung der Reifung der Käse sich folgendermaßen über den Ursprung der Buttersäure in reifenden Käsen äußert:

„Ferner steht noch nicht fest, woher die in reifenden Käsen stets nachweisbare und in reifenden Weichkäsen in reichlichen Mengen vorhandene freie Buttersäure stammt. Die aus dem Milchzucker gebildete Milchsäure kann sie allein nicht liefern, weßhalb man vermuten muß, daß bei der Zersetzung der Eiweißkörper auch Buttersäure entsteht. Daß sie nicht aus dem Fett der Käse abgespalten wird, scheint sicher zu sein."

In der oben schon erwähnten, in Bälde in dieser Zeitschrift zu veröffentlichenden Arbeit werden die Ergebnisse meiner eigenen Untersuchungen, deren Zweck es war, auf experimentellem Wege eine Grundlage zur Beurteilung der Beziehung der Buttersäuregärung oder vielmehr nur einer Form derselben zur Käsereifung zu schaffen, geschildert werden.

Litteratur.

I) Blondeau, Etude chimique du fromage de Roquefort. (Ann. de Chim. et Phys. 1864. p. 208.)
II) Cohn, Beiträge zur Biologie d. Pflanzen. Bd. I. 1875. Heft 3. p. 191.
III) Manetti und Musso, Landw. Versuchsst. XXI. 1876.
IV) Musso und Menozzi, Le stazioni Sperimentali Agric. Ital. 1877. p. 201 und Forsch. auf d. Geb. d. Viehhaltung. 1878. p. 43.
V) Duclaux, Fabrication, maturation et maladies du fromage de Cantal. (Annales agronomiques. 1878.)
VI) Sieber, Journal f. prakt. Chemie. N. F. XXI. p. 203.
VII) Kellner, Landw. Versuchsst. XXV. 1880. p. 39.
VIII) Weidmann, Untersuchungen üb. d. Zusammensetzung u. d. Reifungsprozeß des Emmenthaler Käses. (Landw. Jahrbücher. XI. 1882. p. 587—612.)
IX) Röse und Schulze, Ueber einige Bestandteile des Emmenthaler Käses. (Landw. Versuchsst. XXXI. 1885. p. 115—137.)
X) Benecke und Schulze, Untersuchungen üb. d. Emmenthaler Käse und üb. einige andere schweizerische Käsesorten. (Landw. Jahrbücher. XVI. p. 317—400.)
XI) Duclaux, Le lait, études chimiques et microbiologiques. Paris 1887. (Deuxième tirage augmenté. 1894.)
XII) Adametz, Bakteriologische Untersuchungen üb. d. Reifungsprozeß der Käse. (Landw. Jahrbücher. XVIII. 1889. p. 227—269.)
XIII) Weigmann, Ueber die Lochbildung und Blähung der Käse. (Milchzeitung. XIX. 1890. p. 741.)
XIV) de Freudenreich, Recherches préliminaires sur le rôle des bactéries dans la maturation du fromage d'Emmenthal. (Annales de microgr. T. II. 1890. p. 257.)
XV) v. Freudenreich, Ueber einen neuen im geblähten Käse gefundenen Bacillus (Bacillus Schafferi). (Landw. Jahrb. d. Schweiz. IV. 1890. p. 17.)
XVI) de Freudenreich, Sur quelques bactéries produisant le boursouflement des fromages. (Annales de microgr. T. II. 1890. p. 553.)
XVII) Macfadyen, Chemisch-bakteriologische Untersuchungen üb. eine Euterentzündung und Käseblähung bewirkenden Bacillus (Bacillus Guillebeau c). (Landw. Jahrb. d. Schweiz. IV. 1890. p. 64.)

XVIII) v. Freudenreich, Bakteriologische Untersuchungen üb. d. Reifungsprozeß des Emmenthaler Käses. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. V. 1891. p. 16—29.)
XIX) Weigmann, Die Bakteriologie im Dienste der Milchwirtschaft. Vortrag. (Milchzeitung. 1891. No. 19 u. 20.)
XX) v. Freudenreich u. Schaffer, Ueber den Einfluß des Luftabschlusses auf die Reifung des Emmenthaler Käses. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. VI. 1892. p. 62—66.)
XXI) Krüger, Herstellung, Zusammensetzung und Reifung camembertartiger Weichkäse. (Molkereizeitung. 1892. No. 20—22.)
XXII) Maggiora, Ueb. d. Zusammensetzung des überreifen Käses. (Archiv f. Hygiene. XIV. 1892. p. 217.)
XXIII) Scala und Jacoangeli, Annali dell' Instituto d'Igiene sperimentale Roma. 1892. p. 135.
XXIV) Adametz, Ueber die Ursachen und Erreger der abnormalen Reifungsvorgänge beim Käse. Bremen 1893.
XXV) Baumann, Beiträge zur Erforschung der Käsereifung. (Landw. Versuchsst. XLII. 1893. p. 181—214.)
XXVI) Duclaux, Sur le rôle protecteur des microbes dans la crème et les fromages. (Annales de l'Inst. Pasteur. VII. 1893. p. 304.)
XXVII) Duclaux, Principes de laiterie. Paris. 1893.
XXVIII) Bochicchio, La maturazione dei fromaggi dal punto di vista batteriologico. Portici. 1893.
XXIX) v. Freudenreich, Ueber einige Versuche, die Blähung der Käse zu verhindern. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. VII. 1893. p. 81.)
XXX) Lloyd, Observations on Cheddar Cheese-Making. (Reports for 1891, 1892 and 1893 (Bath).)
XXXI) Marpmann, Käsegärung und Käsepilze. (Pharm. Centralhalle. XXXIV. p. 76.)
XXXII) Bochicchio, Ueber e. Milchzucker vergärenden und Käseblähung hervorrufenden neuen Hefepilz. (Centralbl. f. Bakteriol. XV. 1894. No. 15.)
XXXIII) Bondzyński, Zur Kenntnis der chemischen Natur einiger Käsearten. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. VIII. 1894. p. 189—206.)
XXXIV) v. Freudenreich, Weitere bakteriologische Untersuchungen über den Reifungsprozeß des Emmenthaler Käses. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. VIII. 1894. p. 207—239 und Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. I. 1895. No. 4 bis No. 10.)
XXXV) v. Freudenreich, Beitrag zur Kenntnis der Ursachen des bitteren Käses und der bitteren Milch. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. VIII. 1894. p. 135—143.)
XXXVI) Heinrici, Beiträge zur Bakteriologie des Käses. [Inaug.-Diss. v. Basel.] Emmendingen 1894.
XXXVII) v. Muzakoezy, Bestimmungen des Reifegrades und des Fettgehaltes vom Käse. (Milchzeitung. 1894. p. 749.)
XXXVIII) Adametz, Ueber Micrococcus Sornthalii. (Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. I. 1895. p. 465—473.)
XXXIX) Baier, Ueber Buttersäuregärung. (Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. I. 1895. No. 1 bis No. 3.)
XL) Marchal, Contribution à l'étude microbiologique de la maturation des fromages mous. (Annales de la Société belge de microscopie. T. XIX. 1895. Ref. Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. I. 1895. No. 13/14.)
XLI) Winkler, Zur Charakterisierung der Duclaux'schen Tyrothrixarten, sowie über die Variabilität derselben und den Zusammenhang der peptonisierenden und Milchsäurebakterien. (Centralbl. f. Bakt. II. Abt. Bd. I. 1895. No. 17 bis No. 19.)
XLII) Schaffer, Ueber den Einfluß des sog. Nachwärmens bei der Käsefabrikation auf die Reifungsprodukte der Käse. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. IX. 1895. p. 93—99.)
XLIII) v. Freudenreich, Ueber den Einfluß der bei dem Nachwärmen des Käses angewandten Temperatur auf die Bakterienzahl in der Milch und im Käse. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. IX. 1895. p. 99—106.)
XLIV) Gfeller, Beiträge zur Käseanalyse. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. IX. 1895. p. 107—108.)

Referate.

Frank, Georg, Die Bedeutung der Bakterien im Haushalte der Natur. (Jahrbücher des nassauischen Vereins für Naturkunde. Jahrgang XLVIII. 1895. p. 1—13.)

Nach der ersten Entdeckung dieser Lebewesen durch Leeuwenhoek vor mehr als zweihundert Jahren wurden in der weiteren Erkenntnis derselben nur geringe Fortschritte gemacht, die zweite Hälfte des vorigen Jahrhunderts widmete erst den Bakterien größere Aufmerksamkeit. Aber erst Pasteur wies nach, daß eine Reihe höchst merkwürdiger Vorgänge wie die Fäulnis, die Gärung und ähnliche Vorgänge durch die Lebensthätigkeit von Bakterien oder ihnen ähnlichen bzw. nahestehenden Organismen hervorgerufen würden.

Die bakteriologische Forschung in der Medizin dann auf richtige Wege geleitet zu haben, ist unbestritten das Verdienst Robert Koch's, welcher vor allem einfache und sichere Methoden zum Arbeiten schuf.

Für das Gebiet der Hygiene, der Lehre von der Krankheitsverhütung, ist die Entwickelung der Bakteriologie von der allerweittragendsten Bedeutung geworden. Verf. berührt dann zunächst das Gebiet der Cholera, darauf die Schwindsucht und Lungentuberkulose.

Die eigentliche Heilkunde wurde von Lister reformiert, der, entgegen den bisherigen Anschauungen, daß jede Wunde eitern müsse, um auszuheilen, nachwies, daß Eiterung wie Fieber accidentell seien, bedingt durch das Hineingelangen von Bakterien in die Wunden; gerade dieses Hineingelangen der Kleinlebewesen müßte verhütet werden.

Die zufällige Entdeckung Jenner's, daß eine gewisse Tierkrankheit auch auf den Menschen übertragbar sei, und daß diese Person dann gegen die Blattern immun sei, befruchtend, gelang es Pasteur, Schutzimpfungen auch gegen andere Krankheiten zu finden, ein Verfahren, das von Anderen dann weiter ausgebaut wurde.

Für die Pflanzenwelt ist es weiter notwendig, daß die höheren Verbindungen, welche von den Gewächsen gebildet und von diesen aus in den Tierkörper aufgenommen werden, wieder zu den einfachen Verbindungen zersetzt werden; dieses Amt besorgen wieder Bakterien.

Die Stickstoffanreicherung im Boden bei Anbau von Leguminosen erfolgt wiederum durch die Hilfe von Bakterien. Die Fähigkeit gewisser Bakterien, reinen Stickstoff zu assimilieren und dem Pflanzenleben zuzuweisen, ist von tiefgehendster Bedeutung. Bei dem Lebensprozeß der Tiere wird aus stickstoffhaltigen Verbindungen reiner elementarer Stickstoff gebildet und ausgeschieden. Würden nun durch diese Bakterien wieder neue Stickstoffverbindungen gebildet, so würde nach kürzerer oder längerer Zeit sämtlicher Stickstoff als freies Element sich in der Atmosphäre befinden und damit die organische Welt vernichtet sein.

Ohne Bakterien gäbe es keine saure Milch, keine Käse, keinen Rauchtabak u. s. w., gewisse Farbstoffe erhalten wir nur durch die Thätigkeit der Bakterien. Wein und Bier werden durch dieselben erzeugt u. s. w.

E. Roth (Halle a. S.).

Brefeld, Oskar, Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie. Fortsetzung der Schimmel- und Hefepilze XII. Heft. Hemibasidii. Brandpilze. III. (Fortsetzung des V. und VI. Heftes). [Untersuchungen aus dem Königl. botanischen Institute zu Münster i. W.] p. 236. Mit 7 lithographierten Tafeln. Münster i. W. (Kommissionsverlag von Heinrich Schoeningh) 1895.

Das XII. Heft berichtet über die Form- und Entwickelungsverhältnisse von ca. 60 weiteren in- und ausländischen Brandpilzformen, und zwar werden zuerst im Anschluß an Ustilago Maydis weitere Formen mit Luftkonidien [1]) erörtert.

A. Protohemibasidii.

Ustilaginaceen.
Brandsporen einzeln frei.

Ustilago Aristidae cyananthae n. sp. in den Körnern von Aristida cyanantha aus Englisch Indien erzeugt typisch dreizellige Fruchtträger aus den im Wasser und (schneller) in Nährlösungen keimenden Brandsporen (Chlamydosporen). Diese „Probasidien" treiben am oberen Ende und an den Scheidewänden länglich eiförmige Konidien. Die endlos sich abschnürenden Konidien fallen ab und vermehren sich in der Nährlösung in Hefeform. Ein fädiges Auswachsen der einzelnen Konidien findet nicht statt. Dagegen gehen die am Rande des Kulturtropfens gelegenen Konidien alsbald zur Sprossung von Luftkonidien über, die allgemein mit dem Eintrocknen des Tropfens eintritt. Durch langsamen Zusatz sehr verdünnter Nährlösung konnte der hellweiße Ueberzug des Tropfens durch die Luftkonidien zu einer geschlossenen Kahmdecke gesteigert werden.

Ust. Panici frumentacei n. sp., aus dem Himalaya um Simla, befällt die einzelnen Körner in den Aehren des als Kulturpflanze wichtigen Panicum frumentaceum. Im Wasser tritt die Keimung der Chlamydosporen nur ganz vereinzelt und immer nach sehr langer Zeit ein, in Nährlösung dagegen außerordentlich leicht und ganz allgemein. Die typisch zweizellige Probaside erzeugt an der Spitze und Scheidewand Konidien in unbegrenzter Fülle. Die Stellen, wo die länglichen Konidien abgeschnürt werden, verlängern sich allmählich zu einem fadenförmig vorspringenden Sterigma (ohne Scheidewand), die Konidien sprossen oft noch am Fruchtträger zu weiteren Konidien aus. Mit Erschöpfung der Nährlösung hört die Konidiensprossung in Hefeform auf, die Konidien sprossen zu Fäden aus, die in die Luft wachsen und Luftkonidien bilden, deren Bildung schließlich eine Kahmdecke verursacht. Es entstehen zierliche Konidienbäumchen. In sehr dünn ausgebreiteten Tropfen stark verdünnter Nährlösung bringen die Probasidien der Keimsporen direkt Luftkonidien hervor.

Ust. Cynodontis Hennings aus dem Himalaya befällt die noch

---

1) Vergl. das Ref. zum XI. Heft in diesem Centralblatt.

jungen Blütenstände von Cynodon Dactylon. Die Sporen, in Wasser nicht keimend, bilden in Nährlösung sämtlich dreizellige Probasiden mit Konidienbildung. Oefter teilt sich die Spore vor der Keimung und jeder Teil erzeugt eine Probaside. In Nährlösung treiben die Konidien sehr reichliche Hefesprossungen. Die Konidien zeigen überall die Neigung zur Bildung von Luftkonidien, die hier ebenfalls baumartig verzweigte Sproßverbände bilden.

Ust. Spinificis Ludwig aus Südaustralien verwandelt die sämtlichen Früchte der Köpfchen von Spinifex hirsuta in eine schwarze Brandmasse mit nur 3—4 μ großen Sporen, die im Wasser „wie mit einem Ruck sich ausbreiten", im Wasser nicht, ausnahmslos aber in Nährlösung keimen. Die kleine Spore erzeugt einen großen typisch vierzelligen Fruchtträger, aus dem ganz in derselben Weise wie bei den vorstehenden Arten wiederholt schmale längliche Konidien austreiben (mit nachträglicher Verlängerung der Sterigmen), die sich nur langsam durch direkte Sprossung in Hefeform vermehren. Noch vor Erschöpfung der Nährlösung, oft schon an der Probasidie, wachsen die Konidien zu Fäden aus. Die Bildung von Luftkonidien ist sehr reichlich und führt zur Bildung einer Kahmhaut.

Ust. Arundinellae n. sp. auf Arundinella aus Calcutta hat 8—9 μ große Brandsporen, die, nur in Nährlösung keimfähig, vierzellige Probasidien mit Konidien bilden. In der Nährlösung erfolgt hefeartige Sprossung, bei Erschöpfung Fadenbildung. Die Neigung zur Bildung von Luftkonidien, die in älteren Kulturen förmliche Schimmelrasen bilden, ist noch größer als bei den vorigen Arten.

Ust. Andropogonis tuberculati n. sp. bildet harte schwarze Massen in den Fruchtknoten von Andropogon (um Simla). Die nur in Nährlösung (aus 10—13 μ großen Sporen) aussprossenden vierteiligen dünnen Probasidien haben ungewöhnliche Länge. Die länglichen Konidien bilden ganze Niederschläge hefeartiger Sproßverbände. Nach der Erschöpfung der Nährlösung wachsen diese sehr langsam zu Fäden aus. Luftkonidien werden nicht gebildet.

Ust. Sacchari ciliaris n. sp. aus Calcutta bildet schwarze Sporenmassen in den Fruchtknoten. Die 9—11 μ großen Sporen keimen im Wasser nur vereinzelt und langsam. Die Fruchtträger sind vierzellig, lang und dünn mit reichlicher Konidiensprossung. Die Konidien wachsen nicht zu Fäden aus, Luftkonidien fehlen.

Ust. Andropogonis annulati n. sp. aus Calcutta mit tiefbraunen 8—9 μ großen Sporen. Im Wasser wie in Nährlösung werden zweizellige Probasidien gebildet, die aber nur in Nährlösung eiländliche Konidien in geringer Zahl bilden, die in Nährlösung nach dürftiger Sprossung bald Fäden bilden. Luftkonidien fehlen.

Ust. Coicis n. sp. verwüstet die großen Früchte der Gramineе Coix lacryma völlig. Die 7—9 μ großen, wenig rauhen braunen Sporen der schwarzen Sporenmasse keimten nur in Nährlösung, auch hier nach zweijährigem Aufenthalt in feuchter Erde. Sie bilden eine vierzellige Probasidie, von der sich bald die 3 oberen Zellen an einer schwach verjüngten Stelle der unteren Scheidewand (ähnlich

wie bei Ust. Maydis) abtrennen. Die länglich spindelförmigen Konidien sprossen direkt neue Konidien aus, wobei sie sich stark verlängern und Scheidewände bekommen (ähnlich wie bei Ust. grandis im V. Heft).

Ust. Vaillantii Tul. auf Muscari (im Blütenstand) mit gelben 8—11 μ großen Sporen, die sowohl in Wasser wie in Nährlösung keimen, im Wasser kümmerlich. In Nährlösung werden ein oder zwei Keimschläuche gebildet und an einer verjüngten Stelle abgetrennt. Nach der Abtrennung können die Keimsporen von dem zurückbleibenden Teil aus, der als Sterigma funktioniert, erneut Keimschläuche bilden. Die abgefallenen Keimschläuche erst werden zu dreizelligen, Konidien bildenden Fruchtträgern, deren Konidien zwar direkt zu neuen Konidien aussprossen, aber weiterhin immer wieder zu dreizelligen Konidienträgern heranwachsen. Wie bei Ust. bromivora (Heft V) ist die Größe und Gliederung der Probasidien sowohl der Sporenkeimung wie der Konidien eine bestimmte (zweizellig bei Ust. bromivora), während bei Ust. longissima und Ust. grandis die Sporenkeimlinge und die später gebildeten Konidien allmählich zu größeren vielzelligen Fruchtträgern mit Basidien werden.

Ust. Panici leucophaei n. sp. in den Aehrenständen von Panicum leucophaeum (Brasilien). Die 5—7 μ großen Sporen keimen nur in Nährlösung, nicht im Wasser und erzeugen vierzellige lange Fruchtträger, an der unteren Scheidewand, wo sich bald die 3 oberen Zellen ablösen, knieartig verfügt. Die Fruchtträger erzeugen, ohne sich sonst zu verändern, sehr zahlreiche kleine schmale spindelförmige Konidien, die sich in direkter Sprossung einer feingliederigen Hefe vermehren. Die an der Spore zurückbleibende untere Zelle verhält sich wie eine Gliederzelle im Verband des Fruchtträgers und sproßt oben Konidien aus. Die Hefesprossungen keimen mit dem Stillstand der Sprossung, ohne Luftkonidien zu bilden, träge zu Keimschläuchen aus.

Ust. bullata Beck. auf Triticum orientale (aus Türkmenen) bildet in Nährlösung aus den Brandsporen an dreizelliger Probasidie Konidien, die schon am Träger aussproßten. Die Konidien bilden sehr regelmäßige Sproßverbände in Hefeform, die zuletzt zu Keimfäden auswachsen. Luftkonidien fehlen hier wie bei den vorigen Arten.

Ust. Schweinfurthiana Thüm. in den Früchten von Imperata cylindrica verhält sich wie die vorige Art in Wasser anders als in Nährlösungen, doch werden die Keimformen im Wasser allein verständlich durch die Beobachtung derselben in Nährlösungen. In Nährlösung werden dreizellige Probasidien gebildet, die in Konidien reichlich fruchten. Sie verlieren aber die Dreizelligkeit bald durch Auszweigungen neben den Konidien, die sich durch Scheidewände teilen und wieder verzweigen neben reicher Bildung von Konidien in dichten Büscheln. Die Konidien haben die Neigung, an den Tragfäden wieder auszuwachsen, wodurch schließlich baumkronenartige Auszweigungen entstehen, zwischen denen die Konidien in Büscheln sitzen. Die abfallenden Konidien sprossen eine zeitlang in Hefeform, um

dann ebenfalls wieder konidientragende Verzweigungssysteme von Fäden zu bilden. Durch dünnere Nährlösung werden die Fadenbildungen, durch konzentrierte die direkten Konidiensprossungen mehr gefördert.

Ust. Boutelonae humilis n. sp. aus Ecuador mit Sporen von 20—25 μ. Die Anfangsstadien der Keimung im Wasser zeigten eine dreizellige, unverzweigte Probasidienanlage, von der immer nur die unterste Zelle zu dem langen Keimschlauch auswuchs. Auch die Nährlösung förderte die Entwickelung der oberen Zellen nicht, dagegen trieb der Keimschlauch der unteren Zelle zu bedeutender Länge aus. Konidien treten bei den Kulturen nicht auf.

Ust. Ulei Hennings in der Blattrosette eines kleinen Grases der Gattung Chloris. Die 7—9 μ großen glatten Sporen bilden in Wasser eine dreizellige Fruchtträgeranlage, von der aber auch hier nur die untere Zelle zu einem langen Keimschlauch auswächst. Bei Zusatz von Nährlösung bleibt die Gliederung die gleiche, aber die beiden oberen Zellen bilden dann Konidien, die direkt zu neuen Konidien auswachsen. Der untere dicke Schlauch verlängert sich, bis er der Luft nahe kommt, gliedert sich und treibt auf sehr langen Sterigmen Konidien aus, die der Luft zustreben und bald in Luftkonidien übergehen. Häufig treiben einzelne Gliederzellen wieder fädig aus zu entsprechenden Stolonen. Die Konidien bleiben oft angewachsen, auch die abgefallenen sprossen in Nährlösungen nur kurze Zeit weiter, treiben dann zu Fäden aus, die nur Luftkonidien erzeugen. Der Mangel der Konidien bei der Sporenkeimung im Wasser und die kurze Fortdauer der Konidiensprossung in Nährlösungen etc. zeigen, daß hier die Konidienbildung im Rückgang begriffen ist, während bei Ust. Boutelonae wie Ust. Crameri, Ust. hypodytes, Ust. Rabenhorstiana, Ust. neglecta (Heft V) überhaupt keine Konidien mehr gebildet werden.

Auch bei Ust. (?) Adoxae n. sp., der in den unterirdischen Axen von Adoxa moschatellina vorkommt, keimen die 18—22 μ messenden Sporen nur mit einem einfachen Keimschlauch, ohne zu fruktifizieren. Es ist daher nicht ausgeschlossen, daß hier der einzellige Fruchtträger einer Tilletia vorliegt, der nicht mehr fruktifiziert und sein einziges charakteristisches Unterscheidungsmerkmal eingebüßt hat.

Uebereinstimmendes Verhalten zeigt auch Ust. seminum Juel von den Samenanlagen in den Schoten der Arabis petraea. Auch dieser Brandpilz zeigt nach den Untersuchungen Juel's und Brefeld's nur sterile Mycelbildung ohne Teilungswände, ferner Ust. Rudolphii Tul. (Sorisporium Saponariae Rud.) in den Blüten von Saponaria officinalis. Die Sporen von Ust. Adoxae keimten erst, nachdem sie ein Jahr in feuchter Erde im Keller gelegen (Ust. Luzulae und Ust. echinata aus der Umgebung von Münster hat Verf. noch nicht zum Keimen gebracht. Dieselben liegen zur Zeit noch auf feuchter Erde).

Ust. Tulasnei Kühn auf Sorghum vulgare, ist in der äußeren Erscheinung der Ust. cruenta ähnlich. Die Sporen von 5—8 μ keimen aber nur in Nährlösungen, wo sie vierzellige Fruchtträger

mit langen spindelförmigen Konidien bilden. Letztere werden nur in geringer Zahl frei (bleiben angewachsen) und sprossen nur kurz weiter, um dann lange Fäden zu bilden. Die am Träger verbleibenden Sporen wachsen zu Fäden aus. Später verlängert sich auch der Träger, erhält neue Scheidewände und wächst vegetativ aus. Die Bildung freier Konidien war bei dem Material aus Simla nur auf den ersten Akt der Sporenkeimung beschränkt, und auch hier schwach; bei Material aus Afrika wurden freie Konidien überhaupt nicht mehr gebildet (bei Ust. Crameri auf Setaria italica aus dem Himalaya und aus Simla blieb die Konidienbildung in beiden Fällen aus). Luftkonidien bildet Ust. Tulasnei nicht, während Ust. destruens solche bildet.

Ust. Paspali dilatati Hennings auf Paspalus dilatatus aus Brasilien macht die Inflorescenzen der Nährpflanze völlig unkenntlich. Die Brandsporen keimten, nachdem sie ein Jahr in Erde im Keller gelegen, leicht aus und bildeten vierzellige Probasidien mit Konidien, die in Nährlösung direkt zu Konidien aussproßten, um erst später zu Fäden auszuwachsen, was bei Wasserkeimung sogleich geschah.

Ust. Hordei Bref. auf Hordeum und Triticum, also auf Hordeaceen zeigt gleichmäßig aus Japan, dem Himalaya, Calcutta, Deutschland an den zunächst vierzelligen Probasidien eine Konidienbildung, wodurch die spezifische Unterscheidung dieses Brandes von dem gewöhnlichen Flugbrand auf Avena, der an den vierzelligen Fruchtträgern Konidien und aus diesen endlos Hefekonidien bildet, sich nötig machte. Die Fruchtträgeranlagen des Gerstenbrandes treiben an Stellen, wo sonst die Konidien aussproßten, Fäden aus, die vierzellige Probasidienanlage wird schließlich undeutlich und es entsteht eine dem septierten Mycel höherer Pilze ähnliche Anlage.

Ein weiterer Unterschied zwischen dem Gersten- und Haferbrand zeigt sich besonders in der geringeren Keimdauer der Sporen bei Ust. Hordei, die nach Jahresfrist nicht mehr auskeimten, während der Haferbrand noch nach Jahren leicht und sicher auskeimt. — E. Rostrup hatte nach den ersten vorläufigen Mitteilungen des Verf.'s außer Ust. Hordei noch 3 weitere Formen ausgeschieden, indem er die auf Arrhenatherum elatius perennierende Brandform als Ust. perennans abtrennt, ebenso die Form auf Triticum als Ust. Tritici und endlich einen besonderen Gerstenbrand auf Ust. distichum mit Konidien als Ust. Jensenii Rostr. abtrennt. Verf. hat daraufhin 1891 noch einmal die früheren Kulturen aufgenommen zum Teil mit Hafer- und Gerstenbrand von der Umgebung um Münster zum anderen Teil mit Material aus dem landw. Versuchsgarten in Halle. Er fand dabei seine früheren Resultate in allen Einzelheiten bestätigt. An dem Weizenbrande war kein nennenswerter Unterschied in der Sporengröße, in der Keimung der Sporen ohne Konidien und in der sehr schwach ausgeprägten Rauheit der Außenhaut gegenüber dem Gerstenbrande gegeben. Der Brand auf Hordeum distichum erectum aus Halle stimmte ebenfalls mit Ust. Hordei überein.

Ust. Jensenii Rostr. auf Hordeum distichum. Als

Verf. im vergangenen Sommer den Gerstenbrand aus der Umgegend von Münster und aus Halle wieder untersuchte, fand er zu seinem Erstaunen nicht mehr wie vor 4 Jahren die konidienlose Ust. Hordei, sondern jetzt überall die konidienreiche Ust. Jensenii und keine Spur mehr von dem früheren Gerstenbrand. Ein Vergleich der Sporen ergab nur den geringen Unterschied, daß die Sporen nicht rauh waren und daß bei der Keimung der Chlamydosporen in Nährlösung die Probaside mit den 3 oberen Zellen häufig von der Keimspore, in der eine Zelle zurückblieb, abgetrennt wurde. Auch waren Kulturen mit den Konidiensprossungen weniger schleimig als bei dem Haferbrand, von dem sich der Ust. Jensenii aber nur durch die etwas dunkleren nicht rauhen Sporen unterscheidet. Ein weiterer Vergleich mit dem sehr ähnlichen Haferbrand scheint nötig und dürfte vielleicht Aufschluß geben darüber, wie dieser neue Gerstenbrand nach so wenigen Jahren die frühere konidienlose Form verdrängen und ersetzen konnte. Bei Ust. perennans fand Bref. in der Kultur keinen wesentlichen Unterschied von Ust. Avenae. Die Sporen sind etwas kleiner, sonst rauh in schwacher Form wie diese. Sie keimen etwas träger im Wasser als die von Ust. Avenae. Der wesentlichste Unterschied würde in dem Perennieren in der Nährpflanze gegeben sein, das aber in den Nährpflanzen und nur sekundär am Pilze liegt.

Nachträglich sind noch mehr Formen der früheren Ust. carbo unterschieden worden, so Ust. medians Biedenkopf aus der Umgegend von Halle, die Konidien bildet und durch rauhe Sporen von Ust. Jensenii verschieden sein soll. Dem Verf. scheint aber die minimale Rauheit zu gering, um darauf eine neue Art zu gründen.

Die nun folgende Reihe rauhsporiger Ustilagineen keimte auch in Nährlösung nur zum Teil sogleich aus, während die meisten — ähnlich vielen Ascomyceten und Basidiomyceten — einer besonderen Ruheperiode bedürfen, „auf die Keimzeit angepaßt sind". Verf. beschreibt die besonderen Methoden, nach denen er die Sporen solcher Arten unter möglichst natürlichem Verhältnissen aufbewahrte. Bei einzelnen Formen keimten die Sporen schon nach wenigen Monaten allgemein aus, bei anderen erst nach einem halben oder ganzen Jahre, wieder andere brauchten mehrere Jahre bis zur Keimung, sogar 5 Jahre. Schließlich sind auf diesem Wege aber alle Sporen zum Auskeimen zu bringen.

Ust. Goeppertiana Schroet. auf Rumex acetosa. Die Fruchtträger, welche aus den Sporen hervortreten, bleiben klein und einzellig und treten nur mit dem Konidien bildenden Sterigma aus der Spore hervor (analog den früheren Fällen, wo der in der Spore verbleibende Teil der mehrzelligen Probasidie nach Abtrennung der oberen Zellen neue Sporen bildet). Es sieht aus, als ob die Spore selbst endlos die Konidien erzeugte. Letztere bilden reiche Sproßkonidien in Hefeform. Ganz ähnlich ist die Entwickelung von Ust. olivacea (Heft 5).

Bei Ust. Pinguiculae Rostr. in den Antheren von Pinguicula alpina (Schweiz) mit Sporen von 5—6 μ Größe erfolgt die die Keimung im Wasser und Nährlösung gleich mit der Bildung drei-

zelliger Probasidien, die sehr früh von der Spore abgetrennt werden. Die freien Fruchtträger sprossen aus allen Zellen länglich eiförmige Konidien aus, die sich in Nährlösungen niederschlagartig vermehren. Sie bilden weder Fusionierungen noch Fadenkeimungen (wie das die verwandte Ust. antherarum thut).

Ust. Mülleri n. sp. auf Polygonum hispidum erzeugt vierzellige Fruchtträger mit Konidien, die bei Wasserkultur meist zu zweien fusionieren, in Nährlösung ohne Fusionen wie Sproßkolonieen von Konidien austreiben. Die Keimkraft der Sporen geht bald verloren.

Ust. Koordersiana n. sp. auf Polygonum barbatum aus Java verhielt sich ähnlich. Koorder's hatte in Java die Keimung in Wasser und Nährlösung beobachtet, die nach Europa gelangten Samen keimten aber nicht mehr. Die wenig rauhen ungefelderten braunen Sporen von 8—11 μ bildeten kurze dicke vierzellige Fruchtträger mit länglichen Konidien, die sich durch direkte Sprossung in Hefeform unbegrenzt vermehrten. Mit dem Stillstand der Sprossung fusionieren die Enden meist zu 2 und wachsen an 1 oder beiden Zellen zu langen Fäden aus.

Ust. major Schroet. auf Silene Otites keimt nur in Nährlösung, hier stoßen die Sporen nach wenig Stunden einen dreizelligen Fruchtträger aus, gewöhnlich bleibt aber noch eine der Zellen in der Spore zurück und schnürt ebenso wie der abgetrennte Teil unbegrenzt Konidien ab, die sich in Sprossung vermehren. Die Hefekonidien bleiben nach dem Stillstand der Sprossung unverändert.

Ust. anomala J. Kunze auf Polyg. Convolvulus. Der vierzellige Fruchtträger bildet in Nährlösung unbegrenzt Konidien, die schon am Träger hefeartig aussprossen ohne zu fusionieren. Im Wasser werden nur wenige kleine Konidien gebildet, die schon am Träger über die trennende Scheidewand hinüber paarweise fusionieren, dann einzeln oder zu zwei auswachsen zu Keimfäden. Die Fusion kommt wie in vielen Fällen nur beim Keimen im Wasser zu Stande und hat keinen anderen Effekt, als daß die verbundenen Plasmakörper der Konidien einen längeren Keimschlauch bilden als jede Konidie allein. Wie schon Schroeter fand, keimen die Sporen, die im Herbst eingetragen, erst im Frühjahr.

Ust. vinosa Berk. auf Oxyria digyna. Die Konidienkeimung der vierzelligen aus den Sporen keimenden Fruchtträger geht in Nährlösung bis ins Endlose fort, während sie in Wasser nur wenige Konidien bilden, die hier sofort, in Nährlösung am Ende der Sprossungen einzeln zu einem kurzen, fusioniert zu zweien zu einem längeren Keimfaden austreiben.

Ust. domestica n. sp. auf Rumex domestica fand Verf. in Norwegen in der Nähe der Gehöfte an Abzugsgräben. Alle Teile der Axen und ihrer Verzweigungen bis zu den Blütenständen waren angeschwollen und brandig. Die 11—14 μ messenden dunkelvioletten gefelderten Sporen keimten erst, nachdem sie ein halbes Jahr lang in feuchter Erde gelegen hatten, in Wasser wie in Nährlösung aus zu vierzelligen Fruchtträgern, auf einer stets entleerten Zelle an der Spore. Die länglich eiförmigen Konidien wurden immer nur an

zwei Scheidewänden gebildet, also nicht oben und nicht an der mittleren Wand. Es waren aber alle vier Zellen des Trägers fruchtbar an Konidien, die dicht um die oberste und unterste Scheidewand gruppiert waren. Die unterste und die dritte Zelle des Trägers bildeten die Konidien nach oben, die oberste und die zweite nach unten. Es stand dies mit der meist paarweisen Fusion der benachbarten Konidien in Zusammenhang. In Wasser traten Fusionierungen mit Fadenbildung bis zu vier Konidien ein, in Nährlösung tritt die Fusionierung zurück oder fehlt und es tritt erst Hefesprossung ein.

Von Ust. Parlatorei ist der Pilz durch die Sporen unterschieden. Ein zweiter Pilz auf Rumex den v. Lagerheim am Fuß des Kotopaki in Ecuador fand und mit Potouillard als Ust. Parlatorei bestimmt hatte, hat mit diesem Pilz nichts zu thun und wird als Ust. Lagerheimii n. sp. bezeichnet. Von Ust. domestica unterscheidet er sich durch viel dunklere und etwas kleinere Sporen, Keimzeit und Gestalt des Fruchtträgers.

Ust. Bistortarum DC. auf Polygonum bistorta. Die Blätter der Sporen keimen erst, nachdem sie ein Jahr in feuchter Erde gelegen. Die Konidien werden an den vierzelligen Fruchtträgern wie bei Ust. domestica nur an zwei Scheidewänden gebildet und fusionieren schon am Träger, in Wasser zu Fäden auswachsend. In Nährlösung treibt jede Konidie zu Konidiensprossungen aus, mit deren Auftreten sie erst wieder Fusionen und nachträgliches Auswachsen zu Keimfäden zeigen. Die Neigung zu Fusionen ist hier eine sehr große, doch sprossen die Konidien in konzentrierteren Nährlösungen auch einzeln zu neuen Konidiensprossungen aus.

Bei Ust. Holostei d. By. auf Hol. umbellatum, von dem auch Ust. Duriaeana auf Cerastium triviale nicht abzuweichen scheint, keimen die 11—14 μ großen, prächtig gefelderten Sporen erst nach längerem Liegen in feuchter Erde durch wiederholte Zweiteilung zu vierzelligen Fruchtträgern mit leerer Kammerzelle an der Basis aus. Die Konidien werden hier nur an zwei Zellen, der oberen und untersten an den Scheidewänden so gebildet, daß die unteren dem Träger eng anliegend nach oben, die oberen in derselben Art nach unten wachsen. Da die schmalen Konidien sehr lang sind, begegnen sie sich etwa an der mittleren Scheidewand, wo sie fusionieren. Nach der Fusion fallen sie paarweise ab. Auch benachbarte Konidien derselben Zelle fusionieren. Ueber kümmerliche Konidiensprossungen und baldiges Auswachsen zu Keimfäden waren die Kulturen des wohl mehr ausgeprägten Parasiten nicht hinaus zu bringen.

Ust. utriculosa Nees auf Polygonum lapathifolium keimt erst im folgenden Jahr in vierzelligen Trägern mit Konidienbildung auf der Spitze und an allen Scheidewänden. In Nährlösung tritt die Sprossung in Hefeform ein. Fusionen und Fadenkeimungen wurden nicht beobachtet.

Ust. Scorzonerae Alb. et Schw. auf Scorzonera humilis hat Aehnlichkeit mit Ust. receptaculorum im Blütenboden von Tragopogon pratensis (Heft V) ist aber doch weit davon verschieden und eine gute Art.

Ust. marginalis Lh. an den Rändern der Blätter von

Polygonum Bistorta im Engadin, bildet vierzellige kurze dicke Fruchtträger mit großen rundlichen Konidien an der Spitze und an allen Scheidewänden. Der Fruchtträger bildet endlos Konidien und diese sprossen endlos in Hefeform ohne Fusionen und Keimfäden. Abgesehen von Form und Größe nicht wesentlich verschieden ist die Entwickelung von Ustilago Vuijkii Oud. et Beyerinck auf Luzula campestris.

Sphacelotheca Hydropiperis (Schum.) De B. auf Polygonum hydropiper ist durch die eigentümliche Differenzierung der Sporenanlagen in fertile und sterile (eine Hülle bildend) von Ustilago unterschieden. Die etwa nach sechs Monaten keimenden Sporen zeigen aber in der Keimung keine Verschiedenheit von Ustilago.

Die Formen von Ustilago, deren Entwickelung im V., XI. u. XII. Hefte beschrieben wurde, werden in Untergattungen geschieden. Und zwar werden die Formen nach dem Typus von Ust. longissima, Ust. grandis etc. mit wiederholter, aber noch in der Form schwankender Fruchtträgerbildung als Proustilago, zweitens die Formen gleich des Ust. Vaillantii, Ust. bromivora etc. mit wiederholter, aber schon konstant gewordener Hemibasidienbildung als Hemiustilago ausgeschieden und benannt und schließlich der Rest der Formen mit nur einmaliger in der Sporenkeimung allein sich vollziehender Hemibasidienbildung als Euustilago bezeichnet.

Als Nebenfruchtform finden sich bei Ustilago nur noch Konidien in Hefesprossung, die bei vielen Arten sehr reichlich (Ust. Maydis, Ust. cruenta etc.), in anderen völlig zurücktritt oder ganz verschwindet, wie z. B. bei Ust. destruens, U. Tulasnei etc., wo auch die Konidien am Träger angewachsen bleiben und, indem sie gleich fadenförmig auswachsen, auch in der Form nicht mehr als Konidien zu erkennen sind. — Als Vertreter einer besonderen Gattung werden die früher als Ust. inclusa und Ust. Caricis beschriebenen Carexbrande betrachtet und beschrieben als Anthracoidea.

Anthracoidea Caricis (Pers.) Bref. und A. subinclusa stimmen in der Sporenbildung (von innen nach außen durch eine hymeniumartige Bildungszone, die den ganzen Fruchtknoten von Carex überzieht) mit Cintractia überein, werden aber wegen ihrer charakteristischen Sporenkeimung (die bei Cintractia noch nicht beobachtet worden) vorläufig besonders benannt. Die Pilze überwintern in den Rhizomen der Carexarten und kehren jährlich auf denselben Stöcken wieder. Die Keimung von Anthracoidea Caricis beginnt erst im folgenden Frühjahre und tritt im Wasser ein. Die Keimschläuche treiben in die Luft und werden in zwei Zellen geteilt. Jede der zwei Fruchtträgerzellen bildet eine eilängliche Konidie auf besonderem Sterigma. Das Sterigma unter der Scheidewand verlängert sich während der fortgesetzten Konidienbildung, die zur Bildung kleiner Köpfchen führt. Die Konidien sprossen niemals direkt zu neuen Konidien aus, sondern bilden nur einfache Keimfäden. Die Keimung von A. subinclusa tritt frühestens nach Jahresfrist ein und ist ähnlich wie bei der vorigen Art, die Sporen

sind aber kleiner, mit warzigen Vorsprüngen versehen. Cintractia leucoderma (Berk) Henn. (= C. Krugiana Magn.) konnte nicht zur Keimung gebracht werden.

2) Von den Ustilaginaceen mit nicht einzeln freien, sondern verbundenen oder zu Haufen vereinigten Sporen wurden die folgenden kultiviert.

Schizonella melanogramma U. auf Carex ericetorum (Blätter) bildet dreizellige Fruchtkörper (in Nährlösung mit einer IV. in der Spore verbleibenden Zelle), die häufig abfallen und in Nährlösung endlos spindelförmige Konidien bilden, die ebenso üppige Hefesprossungen bilden. Erst in der erschöpften Nährlösung werden wieder Keimfäden gebildet. Auch bei den untersuchten Tolyposporiumarten:

Tolyposporium Junci Schroet. aus den Fruchtknoten von Juncus bufonius,
T. bullatum Schroet. auf Panicum Crus galli,
T. Penicillariae n. sp. auf Penicillaria spicata,
T. Cenchri n. sp. auf Cenchrus echinatus

fanden sich die gleichen Hemibasidien wie bei Ustilago, daneben Konidienbildung in Hefeform und Luftkonidien. Die Keimung trat erst 1 Jahr nach der Ernte ein.

B. Autohemibasidii.

Tilletiaceen.

Hemibasidien einzellig, den Autobasidien ähnlich.

1) Brandsporen einzeln frei, nicht zu Haufen vereinigt.

Die Brandsporen (Chlamydosporen), deren Bildung auch hier vorzugsweise oder allein auf den Nährpflanzen erfolgt, bilden Konidienköpfchen, d. h. ungeteilte Hemibasidien, die von den Autobasidien des Autobasidiomyceten nur durch die noch nicht typisch gewordene Sporenzahl etc. unterschieden sind. Als Nebenfruchtform finden sich hier noch einzeln und regellos am Mycel gebildete Konidien. Die Hemibasidien werden nur einmal bei der Sporenkeimung (nicht bei der Konidienkeimung) gebildet. Bei Neovossia treten an den Autohemibasidien nadelförmige Konidien auf, die Sichelkonidien bilden, an den Mycelien treten regellos Nadel- und Sichelkonidien auf, aus denen wieder Mycelien mit beiderlei Formen entstehen. Bei Tilletia ist die Trennung in eine niedere und höhere Konidienform schon vollendet: an den aus den Chlamydosporen kommenden Fruchtträgern finden sich nur Nadelkonidien, an den Mycelien nur noch Sichelkonidien. Letztere werden bei Tilletia selbst nur außerhalb der Nährpflanze gebildet, bei der Untergattung Entyloma gehen sie aber bereits der Chlamydosporenbildung auf dem Mycel der Nährpflanze voraus. Bei der ohne genügenden Grund bisher unterschiedenen Gattung Melanotaenium ist die Konidienbildung nahezu erloschen. Die Aeste der Quirlköpfchen bei der Chlamydosporenkeimung fallen nicht ab, sondern treiben vegetativ aus. Von den hierher gehörigen Brandpilzen enthält das XII. Heft die folgenden Arten:

Tilletia controversa Kühn auf Triticum repens (nicht sofort, frühestens nach 2 Jahren keimfähig).

T. zonata n. sp. auf Sporobolus ligularis aus Ecuador (nach Ankunft keimfähig).

T. decipiens Pers., auf Agrostis vulgaris (Sporen werden erst nach 3 Jahren keimfähig und behalten dann die Keimkraft auch im Trocknen etwa ein Jahr bei).

Neovossia Moliniae Koern. Die Sporen zeigen eigentümliche Anhängsel, indem sie am Ende von Fäden entstehen, die in dichten Büscheln aus dem Mycel entspringen und sich zur Sporenreife ablösen (ähnlich wie bei den Chlamydosporen der Uredineen).

Neovossia Barclayana n. sp. auf Pennisetum triflorum hat diese Anhängsel nicht, sie ist von Ust. Penniseti Rbh. schon in den Sporen auf den ersten Blick zu unterscheiden. Die Keimung trat erst nach zweijährigem Liegen auf feuchter Erde ein, hielt dann aber noch weitere 3 Jahre aus.

Melanotaenium cingens (Berk., Brefeld) auf Linaria genistifolia keimte erst nach 4jährigem Liegen auf feuchter Erde aus, die fusionierenden Konidien bilden am Träger nur vegetative Auswüchse, während Melanotaenium caulium Schroet. auf Linaria vulgaris [= M. cingens Magnus] leicht auskeimt und Sekundärkonidien bildet.

2. Brandsporen nicht einzeln frei, sondern verbunden oder zu Haufen vereinigt.

Die sorisporen Tilletiaceen zeigen eine noch größere Mannigfaltigkeit und weitere Differenzierung der Konidienbildung. So bildet Urocystis violae bei der Sporenkeimung bis 8ästige Quirlköpfchen, deren Aeste lange cylindrische Konidien bilden, diese fallen erst ab und bilden Mycelien mit unbegrenzter Bildung, desgleichen Konidien. Urocystis Ranunculi, U. occulta, U. Filipendulae bilden keine freien Konidien mehr. Die ersten Nebenäste treiben vegetativ aus. Bei Tuburcinia Trientalis werden die ersten Quirläste frei, fusionieren und bilden spindelförmige Koniden, auch Mycelconidien auf langen Fäden werden gebildet. Tuburcinia primulicola erzeugt an den ersten angewachsenen Quirlästen ohne Fusion kugelige Konidien. Bei der hüllenlosen Gattung Thecaphora sind die Autohemibasidien arm an Konidien, bilden meist nur eine Konidie, das Mycel bildet die gleichen Conidien. Bei Doassansia bilden die sterilen Hüllsporen eine Art Peridie. Bei D. Limosellae und D. Sagittariae tragen die Hemibasidien einen Quirl langer spiralförmiger Konidien, die zu kleineren Konidien in Hefeform aussprossen, erst später werden Keimfäden gebildet. Bei D. Alismatis und D. punctiformis fusionieren die Konidien des ersten Quirls und bilden eine größere Konidie, die sich teilt und sowohl an den Enden als an den Scheidewänden neue Konidien treibt, sie, wie die Teilzellen, treiben endlich Fäden mit Luftkonidien. Von hierher gehörigen Formen behandelt Heft XII:

Urocystis occulta Wallr. auf Secale cereale (sofort keimend), U. Anemones Pers. auf Ranunculus Sardous (Keimung nach halbjähriger Ruhe), U. Filipendulae Tulasne auf Ul-

maria Filipendula (einjährige Ruhe), U. Violae Sow. auf Viola odorata (sofort keimend).

Tuburcinia primulicola Rostr. auf Primula farinosa, Doassansia Sagittariae Fckl. auf Sagittaria sagittifolia, D. Limosellae Kunze, D. Alismatis Nees auf Alisma Plantago, D. punctiformis Niessl auf Butomus umbellatus.

Den beiden natürlichen Familien der Brandpilze, den zu den Protobasidiomyceten hinüberleitenden Ustilaginaceen und den zu den Autobasidiomyceten führenden Tilletiaceen wird als Anhang eine Formenreihe angeschlossen, die in der äußeren Erscheinung mit den Brandpilzen übereinstimmt, sich aber den höheren Pilzen der Mycomyceten zugehörig erwiesen hat. Der Formtypus ist hauptsächlich vertreten durch den sog. Reisbrand (Tilletia Oryzae Pat.), der, wahrscheinlich einem Ascomyceten zugehörig, als Ustilaginoidea vom Verf. unterschieden wird.

Das Aeußere des Pilzes und sein Vorkommen in den Früchten von Oryza ist völlig das eines Brandpilzes. Ein Querschnitt der angeschwollenen Früchte zeigte außen die Sporenlager, innen eine dichte feste, aus den Hyphen des Pilzes gebildete Masse (Sclerotiumanlage). Die 4—6 μ großen runden Sporen erscheinen warzig und sind durch eine schwarze, den Alkohol tief grün färbende Substanz verklebt, die auch die Sporen in den Kulturmedien leicht kenntlich machte. Bei der Keimung der Sporen in Nährlösung entstehen gegliederte Pilzhyphen die zu verzweigten Mycelien anwachsen, die sich schließlich färben und der Flüssigkeit eine grünlichschwarz opalisierende Färbung verleihen, sie bilden einfache Konidienträger, die sich als Nebenfruchtformen bei so manchen Basidiomyceten und Ascomyceten finden. Die den Brandsporen ähnlichen schwarzen Sporen, die auch in Nährlösung gezogen wurden, erwiesen sich gleichfalls als Konidien, nicht als Chlamydosporen. Bei einer zweiten Form, die Verf. „als eine neue Brandform" auf Setaria crus ardeae aus Brasilien erhielt, Ustilaginoidia Setariae Bref. waren die Sclerotien im Inneren der hier dünneren Sporenlager die Setariafrüchte völlig ausgebildet, keimten aber aus diesem Material ebensowenig wie die Sporen. Mitte Mai 1895 erhielt jedoch Verf. frisches Material durch Fritz Müller in Blumenau mit schönen Sclerotien und dem Sporenlager in voller Ausbildung. Die Sporen keimten auch schon im Wasser.

Auch die Sclerotien dieses Materials haben inzwischen gekeimt und des Verf. Meinung, daß es sich hier um einen Ascomyceten handeln könne, bestätigt. Daß auch Geminella Delastrina einer höheren Pilzform und nicht den Brandpilzen angehört, „versteht sich nach der früher im V. Heft auf Taf. XII abgebildeten Konidienform von selbst", vermutlich fanden sich auch hier in den Veronica-Fruchtknoten Sclerotien.

Schröter hatte aus Geminella, Thecaphora etc. die Familie der „Thecaphorei" gemacht, die nicht existiert und nach den vergleichend morphologischen Erwägungen nicht existieren kann. Als dritte Familie der Brandpilze sind höchtens noch Formen denkbar mit Hemibasidien nach dem Typus der Tremellinenbasidien, also mit vertikal gestellten Basidien.

Die vorliegenden Untersuchungen haben die Pilzabteilung der Mesomyceten zwischen Phycomyceten und Mycomyceten, die sich aus den Untersuchungen des Verf. über die Basidiomyceten und Ascomyceten ergab, nunmehr in einer Weise begründet, daß jeglicher Zweifel an der Richtigkeit des Brefeld'schen natürlichen Systems der Pilze schwinden muß. F. Ludwig (Greiz).

Nachschrift. Inzwischen ist es dem Verf. gelungen, aus den Sclerotien der Ustilaginoidea die Perithecienköpfchen zu kultivieren. Dieselben gleichen in der Form völlig denen der Claviceps purpurea und besitzen bei der Ust. Setariae einen braunen, kugeligen Kopf auf gelbem Stiele. (Vgl. O. Brefeld, Der Reisbrand und der Setariabrand, die Entwickelungsglieder neuer Mutterkornpilze. [Botan. Centralbl. Bd. LXV. 1896. No. 4. p. 97—108.])

Van Laer, H., Recherches sur la composition d'une levure mixte de fermentation haute. (Bulletin de l'Association belge des chimistes. Année IX. 1895. No. 7. p. 216.)

Der Verf. studierte die seit 3 Jahren nicht gewechselte Betriebshefe einer belgischen Brauerei auf die Konstanz ihrer Zusammensetzung. Die Hefe bestand aus 2 Haupthefen, nämlich einem Sacch. cerevisiae und einer Torula, außerdem aus 2 Nebenhefen, Sacch. Pastorianus A und B. Der Sacch. cerevisiae gehörte dem Typus Frohberg-Logos an. Die Torula besaß die Eigenschaft, sich bei der Gärung in Würze zu dicken Flocken zusammenzuballen, sie vergohr Dextrose, Lävulose und Rohrzucker, nicht aber Maltose. In Bierwürze gärt sie nur sehr wenig, vermehrt sich aber darin reichlich. Die Torula soll bei der Bierklärung hervorragend beteiligt sein. Der Sacch. Pastorianus A wurde aus der Betriebshefe isoliert; bezüglich der Gärung verhält er sich wie der Sacch. cerevisiae. Der Sacch. Pastorianus B. konnte nur aus Bierbodensätzen ermittelt werden; er verhält sich wie Sacch. Past. A.

Diese Betriebshefe hat der Verf. nach 3 und 6 Monaten wieder untersucht und sämtliche Hefen dann wieder gefunden. Bei der Feststellung des Vermehrungskoëffizienten der 4 Hefen ergab es sich, daß der Vermehrungskoëffizient der Torula fast einmal so groß war als der des Sacch. cerevisiae.

Der Verf. glaubt, durch seine Versuche erwiesen zu haben, daß die Delbrück'schen Gesetze der natürlichen Reinzucht nicht für alle besonderen Fälle zutreffend seien, da sonst die Betriebshefen, also auch die von ihm untersuchte belgische zum Schluß aus einer einzigen Art bestehen müßten. Diese Annahme dürfte jedoch verfrüht und zu weitgehend sein. Offenbar herrscht unter den in der betreffenden belgischen Brauerei bestehenden Verhältnissen für die Zusammensetzung der Hefe ein gewisser Gleichgewichtszustand, dessen Ursachen noch zu ergründen sind. Außerdem muß noch die Art der Gärführung, sowie vor allem die Art der Gewinnung der Samenhefe in Betracht gezogen werden, die vielleicht direkt auf eine Methode hinausläuft, nach der aus bestimmten Gründen die Erzielung einer natürlichen Reinzucht von einer einzigen Hefenrasse vermieden und die Erlangung einer Mischhefe angestrebt wird. Windisch (Berlin).

Wehmer, C., Ueber die Verflüssigung der Gelatine durch Pilze. (Chemiker-Zeitung 1895. No. 91. 2088.)

Ausgedehntere Erfahrungen über das Verhalten von Sproß- und Mycelpilzen gegenüber gelatinehaltigen Nährböden liegen nach dem Verf. nicht vor, wenngleich es Manchem bekannt sein dürfte, daß wenigstens Hefen bei der üblichen Strichkultur in Reagenzröhren auf Würzegelatine im allgemeinen diese wenig oder doch nur außerordentlich langsam verändern. Angaben in der Litteratur bezüglich der Mycelpilze fehlen — von vereinzelten mehr beiläufigen abgesehen — nach dem Verf. fast ganz. Offenbar ist aber bei den Mycelpilzen das Peptonisierungsvermögen weit verbreitet, so daß das Gegenteil als eine relativ seltene Ausnahme betrachtet werden muß.

Die Versuche, zu denen insbesondere eine Reihe von Aspergillusarten (neben einigen Reinhefen) herangezogen wurden, waren in der Weise angeordnet, daß mittelweite Reagenzgläser mit je 15 ccm der Nährlösung (Bierwürze, bezw. Stärkezuckerlösung, welcher 1 Proz. des üblichen Nährsalzgemisches zugesetzt war) gefüllt wurden. Der Gelatinezusatz betrug gleichmäßig 10 Proz.

Die überwiegende Mehrzahl der ausgesäten Mycelpilze übte schon nach wenigen Tagen eine stark verflüssigende Wirkung aus; dieselbe war schon zu konstatieren, nachdem die Sporen zu kleinen Rasen ausgewachsen waren. Im Allgemeinen zeigte sich, daß nach ungefähr 10 Tagen durchweg wenigstens die Hälfte des festen Nährbodens verflüssigt war und nach 2—3 Wochen eine totale Verflüssigung stattgefunden hatte. Ein derartiges Verhalten zeigten insbesondere Aspergillus niger, A. oryzae, A. candidus, A. minimus, A. Ostianus, A. novus, Penicillium glaucum, P. olivaceum, P. italicum, P. luteum, Botrytis cinerea, Cephalothecium roseum.

Nur einzelne Formen gaben ein weniger prägnantes bezw. unsicheres Resultat. Hierher sind zu rechnen Aspergillus glaucus, A. fumigatus und A. varians. Unter günstigeren Bedingungen verhalten sich dieselben möglicherweise wie die anderen Schimmelpilze.

Bei keiner der von dem Verf. geprüften Heferassen fand eine Peptonisierung statt, welche nur annähernd mit jener durch Mycelpilze bewirkten verglichen werden könnte, vielmehr fand hier auch im günstigsten Fall nur eine erst nach Wochen und Monaten in die Erscheinung tretende schwache, oberflächliche Verflüssigung statt, obschon die an den Impfstrichen hochentwickelnden Kolonieen eine ansehnliche Ausdehnung erlangt hatten (Hefe Frohberg). Stichkulturen der Hefe Saaz wuchsen auf Zuckergelatine zu erbsengroßen Kolonieen heran, ohne daß nach Monaten irgend eine Veränderung des dauernd festen und wasserklaren Substrates beobachtet wurde. Zur Untersuchung standen dem Verf. außer einer anderen untergärigen Hefe eine Brennereihefe sowie Pastorianus I, II und III zur Verfügung.

Hefeähnliche Organismen, wie beispielsweise eine vom Verf. in Kultur gehaltene derartige Form peptonisieren unter Umständen mit einer Schnelligkeit, die ganz jener der Mycelformen entspricht.

Es resultieren dann also nicht Tropfen einer dicklichen Flüssigkeit (wie z. B. nach längerer Zeit bei Hefe Frohberg), sondern schon nach Kurzem eine dünnflüssige Lösung.

Die peptonisierte Gelatine wird von den bezüglichen Organismen naturgemäß weiter zersetzt, und als Endprodukt schießen in den Kulturen nicht selten ansehnliche Krystallbildungen (Ammoniaksalze) an. Es ist das aber nicht anders als bei der Darbietung von Pepton als Nährstoff.

(Verf. würde bei einer Durchsicht der neueren Litteratur über Gärungs- und diesen ähnliche Organismen gefunden haben, daß gerade über diese, speziell auch über die Saccharomyceten denn doch schon etwas mehr Erfahrungen hinsichtlich ihrer Fähigkeit, Gelatine zu verflüssigen, zur Verfügung stehen, als er anzunehmen scheint.

Die Litteratur in der vorliegenden kurzen Mitteilung ist nur nach Zopf — Die Pilze. 1890. S. 179 — zitiert. In diesem Verzeichnis sind aber auch die Untersuchungen von Adolf Hansen über die Verflüssigung der Gelatine durch Schimmelpilze — Flora LXXII. Heft 2. S. 88, ref. bot. Centralbl. 1889. No. 42. S. 74 — nicht aufgeführt. Nach Weidenbaum — Centralbl. f. Bakt. u. Parastkd. 1892. No. 18. p. 69. — verflüssigt Oidium lactis Gelatine, wenn dieselbe sauer ist. Es unterscheidet sich hierdurch wesentlich vom Oïdium albicans, welches Gelatine unter keinen Umständen verflüssigt.

In Beziehung auf die Verflüssigung von Gelatine, speziell von Bierwürzegelatine durch Hefe hat wohl jedes gärungsphysiologische Laboratorium Gelegenheit gehabt, reiche Erfahrungen zu sammeln und sind auch da und dort bereits diesbezügliche Mitteilungen — vergl. beispielsweise die Angaben von P. Lindner, Die mikroskopische Betriebskontrolle. Berlin (Parey) 1895. p. 98 und an anderen Stellen (beispielsw. Wochenschr. f. Brauerei. 1891. No. 24. p. 669) — in der Litteratur zu finden.

Nach den Erfahrungen des Ref. dürften wohl die meisten untergärigen Bierhefearten 10-proz. Würzegelatine in Stichkulturen verflüssigen. Beispielsweise wird von den 4 von demselben beschriebenen Arten — vergl. d. Centralbl. No. 12. S. 449 — die Würzegelatine (20 ccm) bei gewöhnlicher Temperatur innerhalb einiger Wochen, bald früher bald später, vollständig zu einer klaren dünnflüssigen Lösung umgewandelt. Auch die Hefe Saaz verflüssigte dieselbe Würzegelatine unter den gleichen Umständen in ähnlicher Weise. Um so interessanter ist jedenfalls die Angabe des Verf., daß Hefe Saaz Zuckergelatine nicht verflüssigte. Es besteht hinsichtlich dieser Angaben eine gewisse Uebereinstimmung mit den Mitteilungen von Fischer und Brebeck — Zur Morphologie, Biologie und Systematik der Kahmpilze etc., Jena 1894. p. 13 —, daß bei allen von ihnen untersuchten Saccharomyceten sowie einer größeren Anzahl von Torula-Arten eine meist allerdings erst nach einigen Wochen bemerkbare Verflüssigung der Bierwürzegelatine wahrgenommen wurde, die bei den Stich- und Strichkulturen zu einer vollständigen Verflüssigung des Nährbodens führte. Eine Verflüssigung der gewöhnlichen Nährgelatine durch Saccharomyceten, Torula-

bezw. Endoblastoderma-Arten (z. T. identisch mit Mycoderma, z. T. mit S. anomalus) kam dagegen nur ausnahmsweise zustande. Hier hätte wohl eine erneute systematische Untersuchung einzusetzen, um die Ursachen dieses verschiedenen Verhaltens gegenüber den verschiedenen Nährgelatinen klar zu legen. Ref. hat schon früher in Beziehung auf die Saccharomyceten der Vermutung Ausdruck gegeben — Zeitschr. ges. Brauwesen 1895. No. 1. S. 2. Anmerkung — daß die Verflüssigung an das Auftreten der Kahmhautformen der Hefe geknüpft sei. Wie man sich nämlich leicht überzeugen kann, greift schließlich bei den Stichkulturen, wie auch schon von verschiedenen Seiten bestätigt wurde, eine mit der Kahmhautbildung wahrscheinlich identische Entwickelung der Hefe Platz. Es treten nämlich ausgedehnte Sproßverbände lang gestreckt wurstförmiger Zellen auf, deren Identität durch Prüfung der Wachstumsform der Kolonieen auf festen Nährböden noch festzustellen ist. Die Vermutung stützt sich wesentlich auf die Untersuchungen von Rayman und Kerùis — Mittg. der Versuchsstation für Spiritusindustrie in Prag. 1891. Heft 1, ref. Centr. f. Bakt. u. Parasitkd. Abt. I. XII. 150 —, aus welchen hervorgeht, daß in alten Kahmhautkulturen, in welchen nach den Untersuchungen des Ref. eine bestimmte Kahmhautgeneration dominiert, eine weitgehende Umwandlung der in der vergorenen Würze noch vorhandenen Eiweißkörper stattfindet, eine so weit greifende, daß ähnlich wie bei der Umwandlung der Gelatine schließlich nur mehr Ammoniaksalze vorhanden sind.

Wenn bei der nach der von P. Lindner angegebenen Technik durchgeführten Züchtung von Riesenkolonieen auf Würzegelatine, welche nach den Untersuchungen des Ref. ebenfalls nichts anderes als Kahmhautbildung auf festem Nährboden wie bei den Stich- und Strichkulturen darstellen, keine Verflüssigung eintritt — wenigstens hat Ref. bis jetzt niemals bei Anwendung von Bierwürzegelatine bei Temperaturen zwischen 20° und 10° C., selbst bei mehrere Monate alten Kulturen eine solche beobachtet —, so liegt möglicherweise die Ursache darin, daß hier die Kahmhautentwickelung sehr wahrscheinlich eine einseitige ist — die diesbezüglichen Versuche sind noch im Gange —, daß gerade die Kahmhautgeneration, welche in älteren Würzekulturen dominiert, hier sehr untergeordnet und sehr spät auftritt. Dieser Anschauung steht allerdings die ziemlich rasche Verflüssigung von saurer Bouillongelatine durch unter gleichen Bedingungen gezüchteten Riesenkolonieen derselben Hefearten gegenüber. Diese Riesenkolonieen, welche ein von den auf Bierwürzegelatine gezüchteten verschiedenes Aussehen haben, waren hier vorherrschend auch aus anderen Zellformen als dort zusammengesetzt, wobei wieder gerade diejenigen Zellen, von welchen vermutet wurde, daß sie wesentlich an der Verflüssigung beteiligt seien, in größerer Zahl nicht vorhanden waren. Bemerkt mag noch sein, daß bei einer Aufschwemmung der 4 erwähnten Hefearten auf 10-proz. Würzegelatine nach etwa einem Monat bei gewöhnlicher Temperatur unterhalb der entwickelten Hefeschichte in den meisten Kulturen Verflüssigung eintrat, wobei sich die Hefen hinsichtlich der Zeit, innerhalb welcher die Lösung erfolgte, verschieden verhielten. In einem Fall wurde bei

der gleichen Hefe die Gelatine in der einen Parallelkultur aufgelöst, in der anderen nicht. Die entwickelte Hefeschichte enthielt auch hier wieder verschiedene Kahmhautgenerationen, und zwar in reichlicher Menge.

Eine Reihe von in unserem Laboratorium gezüchteten Arten von S. anomalus verflüssigen 10-proz. Bierwürzegelatine nicht, während eine von Fischer und Brebeck beschriebene Art (Endoblastoderma pulverulentum) die Gelatine peptonisiert.

Koehler — Mittlgn. der österr. Versuchsstation für Brauerei und Mälzerei. Wien 1892. Heft V. S. 45 — bestätigt die schon von Hansen — Meddeleser fra Carlsberg Laboratoriet. II. 1888. Resumé. 147 — gemachte Beobachtung, daß S. membranaefaciens Würzegelatine langsam verflüssigt. Die Gelatine erweicht in Stichkulturen und wird an der Oberfläche schalenförmig verflüssigt. Aehnlich verhält sich S. Joergensii Lasché — Mittgn. aus dem bakt. Laborat. der wissenschaftl. Station für Brauerei in Chicago. Zeitschr. ges. Brauw. 1892. No. 12. S. 113. —; Peptongelatine wird durch diese Hefe nur teilweise verflüssigt.

Aber nicht nur in Beziehung auf Hefe, sondern auch auf andere Sproßpilze wie Mycoderma, Soor — Fischer und Brebeck l. c. S. 34 u. 42, Weidenbaum l. c., Plaut, Neue Beiträge zur systematischen Stellung des Soorpilzes. Leipzig 1887. S. 18 u. 19 —, Monilia candida — Bräutigam, Untersuchungen über die Mikroorganismen der Schlämpe. Dissertation. Leipzig 1886. S. 14 — u. Torula liegen Erfahrungen bezüglich der Peptonisierung bezw. Nichtverflüssigung der Gelatine vor.

Abgesehen von den älteren Angaben von Lasché — der Braumeister. Chicago 1891. No. 10. S. 295 —, daß die von ihm untersuchten Mycoderma-Arten aus Bier die Gelatine (Pepton- oder Würzegelatine) nicht verflüssigen, sind über das Verhalten von Mycoderma (Endoblastoderma) aus Bier, Wein, Essig und Meerwasser in der oben zitierten Arbeit von Fischer u. Brebeck eine Reihe von Mitteilungen gemacht. Endoblastoderma liquefaciens verflüssigt sowohl Bierwürzegelatine wie auch gewöhnliche Nährgelatine. Eine vom Ref. in Kultur gehaltene und nach den verschiedensten Richtungen hin untersuchte Mycoderma-Art aus Bier, welche letzteres unter Umständen stark entfärbt und demselben einen unangenehmen Geschmack verleiht, verflüssigt in Riesenkolonieen zwar sauere Bouillongelatine bei Temperaturen zwischen 20° und 14° C. nach Verlauf von mehreren Wochen, nicht aber 10-proz. Würzegelatine ohne oder mit verschiedenen Zusätzen; beide Nährböden werden in Stichkulturen bei der gleichen Temperatur nicht verflüssigt. Bei der Züchtung von Riesenkolonieen auf 10-proz. Sauerkrautwassergelatine trat bei Temperaturen um 20° C. keine Verflüssigung ein, während die gleiche Gelatine bei niederen Temperaturen (um 10° C.) gelöst wurde. In Stich- und Strichkulturen wurde sie dagegen nicht verflüssigt.

Zwei rote, von Lasché beschriebene Mycoderma-Arten — Der Braumeister. Chicago 1892. No. 9 — verflüssigen ebenfalls Gelatine.

Eine in unserem Laboratorium in Kultur gehaltene große Torula-Art, welche ähnlich der von P. Lindner aufgefundenen — Betriebskontrolle S. 222 — eine sehr dicke Membran besitzt, deren äußerste Schichte nicht selten abgeworfen wird, verflüssigt in Riesenkolonieen ebenfalls ziemlich rasch 10-proz. Bierwürzegelatine zu einer klaren dünnen Lösung.

Diese wenigen Angaben, welche sich nicht unschwer vermehren lassen, mögen genügen, um die eingangs gemachte Behauptung gerechtfertigt erscheinen zu lassen. Eine systematische Behandlung der vorliegenden Frage fehlt allerdings zur Zeit noch. Dieselbe bietet nicht nur wissenschaftliches, sondern in Hinsicht auf die verschiedenen Heferassen auch praktisches Interesse. D. Ref.)

H. Will (München).

Gonnermann, M., Ein diastatisches Ferment in der Zuckerrübe (Beta vulgaris var.) (Chemiker-Zeitung. Jahrg. XIX. No. 80.)

Dem Verf. gelang es, durch geeignete Behandlung von gefrorenen und gekeimten Rüben ein Enzym darzustellen, welches Amylodextrin in Dextrose überzuführen vermochte. Hollborn (Rostock).

Marchal, Paul, La Cécidomyie de l'avoine (Cecidomyia avenae n. sp. (Compt. rend. CXX. 1895. p. 1283—1285.)

Im Jahre 1894 wurde der Hafer in Poitou und manchen Teilen der Vendée durch eine der Cecidomyia destructor sehr ähnliche Diptere verwüstet. Da C. destructor bisher noch nie auf Hafer auftrat, schien es von Interesse, festzustellen, ob es sich bei der Haferfliege um eine neue Spezies oder nur um eine Form der genannten Cecidomyia-Art handelt, die sich dem Hafer besonders angepaßt hat. Verschiedene Infektionsversuche, die Verf. eingehend beschreibt, ergaben, daß C. destructor nicht auf Hafer, die Haferfliege nicht auf Weizen zur Entwickelung gelangt. Demgemäß ist es nunmehr als sicher anzunehmen, daß hier eine neue Spezies vorliegt. Die Artverschiedenheit geht im Uebrigen auch aus der Thatsache hervor, daß in manchen Gegenden nur der Weizen, in anderen nur der Hafer unter den Angriffen von Gallmücken zu leiden hatte.

Die genauere Untersuchung vieler befallener Haferpflanzen giebt glücklicherweise zu ernsten Befürchtungen für die nächste Zukunft keinen Anlaß. Dieselben enthielten Larven nur in verhältnismäßig geringer Menge und viele derselben erwiesen sich außerdem von Ichneumonidenlarven besetzt. L. Hiltner (Tharand).

Kirchner, O., Die Wurzelknöllchen der Sojabohne. (Cohn's Beitr. z. Biologie d. Pfl. Bd. VII. 1895. p. 213—224. Taf. I.)

Verf. beobachtete, daß die im botanischen Garten in Hohenheim kultivierten Exemplare von Soja hispida niemals Wurzelknöllchen bildeten, während die anderen in unmittelbarer Nachbarschaft gezogenen Papilionaceen große Mengen von Knöllchen besaßen. Er erhielt nun aus Japan eine Quantität Boden zugesandt, in welchem im Vorjahre Sojabohnen gewachsen waren, und stellte mit diesem

teils an Topfpflanzen, teils im freien Lande Impfversuche an, die ein positives Resultat ergaben. Die Wurzelknöllchen der Sojabohne scheinen somit einer besonderen Art von Bakterien ihre Entstehung zu verdanken; dieselben schließen sich nach den Züchtungsversuchen des Verf. dem Phaseolus-Typus an. Verf. schlägt nun vor, die Wurzelknöllchenbakterien allgemein als Rhizobakterium zu bezeichnen und giebt der von ihm beobachteten Art den Namen Rhizobakterium japonicum. Die Diagnose derselben lautet: „Zellen stäbchenförmig, meist leicht gebogen, 3,2—3,6 μ lang, 0,8 μ dick, mit körnigem, bei Färbung mit Anilinfarben hervortretendem Inhalt, ohne Bewegungsvermögen; Kolonieen auf Nährgelatine langsam wachsend, klein, die Gelatine nicht verflüssigend, erhabene rundliche Tröpfchen von durchscheinender weißlicher Farbe und paraffinartigem Aussehen bildend. Lebt im Boden in Japan und bringt die Wurzelknöllchen von Soja hispida Much. hervor.“

Ueber den Einfluß der Knöllchen auf das Wachstum der Sojabohne hat Verf. noch keine speziellen Untersuchungen angestellt. Immerhin zeigten doch bereits die Impfversuche, daß die knöllchentragenden Exemplare einen merklich größeren Ernteertrag und namentlich größere Samen lieferten als die knöllchenfreien.

Anhangsweise bemerkt Verf., daß er nach Abschluß seiner Arbeit von Breslau im dortigen botanischen Garten gewachsene Sojawurzeln zugesandt erhielt, die bis zu 5 mm große Knöllchen trugen. Eine Untersuchung derselben ergab, daß sie nur zum geringeren Teil echtes Bakteriengewebe enthielten, zum größeren Teil aber große Mengen von Stärkekörnern einschlossen. Zimmermann (Berlin).

Hiltner, L., Ueber die Bedeutung der Wurzelknöllchen von Alnus glutinosa für die Stickstoffernährung dieser Pflanze. (Landw. Vers.-Stat. Bd. XLVI. 1895. p. 153—161. mit 1 Taf.)

Veranlaßt durch die Arbeit Dinger's (de els een stikstofverzamelaar), der es nur wahrscheinlich machen konnte, daß die Erle ein Stickstoffsammler sei, veröffentlicht Verf. Versuche, die in der gleichen Frage schon seit dem Jahre 1892 an der Tharander Versuchsstation eingeleitet und fortgeführt sind.

Zwei knöllchenführende und einige nicht knöllchenführende, im übrigen gleiche Erlen wurden in stickstofffreien, mit den übrigen Nährstoffen versehenen Quarzsand gepflanzt. Eine beigegebene Tafel, auf der je eine der Pflanzen dieser beiden Gruppen nach Verlauf einiger Wochen der Kultur nach einer Photographie abgebildet ist, zeigt einen gewaltigen Unterschied zu Gunsten der knöllchenführenden Pflanze. Die knöllchenfreien Pflanzen zeigten sämtlich erst kräftiges Wachstum, als sich an ihnen infolge früherer, aber anfangs wirkungslos gebliebener Impfung unerwartet doch noch Knöllchen bildeten.

Weiterhin wurden Erlen in Nährlösung kultiviert und die Kulturen erfolgreich mit zerriebener Knöllchenmasse geimpft. Nachdem die entstandenen Knöllchen eine gewisse Größe erreicht hatten, kamen zwei der Pflanzen in völlig stickstofffreie Nährlösung, zwei andere

blieben in normaler Nährlösung. Während die Knöllchen der letzteren fast gar nicht weiter wuchsen und die Pflanzen dank der Stickstoffgabe trotzdem normal gediehen, haben sich die Knöllchen in stickstofffreier Lösung vielmal vergrößert und bis 8 mm Durchmesser erreicht, und die Pflanzen haben trotz nun schon zweijährigen Aufenthaltes in stickstofffreier Lösung sich üppig entwickelt, so daß sie bei 10—20 mm Stammdurchmesser 30 Zweige mit 300—500 Blättern besaßen.

Aus diesen Versuchen folgert Verf., daß die Erle dank ihrer Wurzelknöllchen im hohen Grade das Vermögen, Stickstoff zu sammeln, besitzt, ein Vermögen, das der knöllchenfreien Pflanze abgeht. Die Knöllchenwirkung wird in stickstoffreichem Boden freilich, wie die Wasserkulturen zeigen, unbedeutend oder gar aufgehoben sein.

Interessant ist ferner die gelegentlich der Infektion gemachte Wahrnehmung, daß der Knöllchenorganismus, analog wie bei den Erbsen, wahrscheinlich durch die Wurzelhaare einwandert, worüber Verf. genauere Mitteilungen in Aussicht stellt, und daß der eben eingewanderte Organismus so lange als Parasit wirkt, bis die Knöllchen vollständig ausgebildet sind, was sich an dem kümmerlichen Wachstume der geimpften Pflanzen in der betreffenden Entwickelungsperiode erkennen ließ. Aderhold (Proskau).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Bau, Arminius, Prüfung der Preßhefe auf eine Beimengung von Unterhefe. (Zeitschrift f. Spiritusindustrie. Bd. XVIII. 1895. No. 47—51.

Im Anschluß an seine frühere Mitteilung über den Nachweis von Unterhefe in obergäriger Preßhefe[1]) berichtet Verf. über weitere ausführliche Versuche in dieser Richtung und giebt auf Grund derselben eine eingehende Beschreibung der Untersuchungsmethode. Das Verfahren gründet sich darauf, daß Unterhefe Melitriose vollständig vergärt, während Oberhefe, gleichgiltig ob Brauerei- oder Brennereihefe, diese Zuckerart in Melibiose und Fruktose spaltet, von denen nur die letztere vergoren wird. Nach beendeter Gärung ergiebt die Prüfung mit Fehling'scher Lösung, welche von Melibiose reduziert wird, den Nachweis, ob die Oberhefe frei von Unterhefe war. Die ersten Versuche waren mit reingezüchteten Hefen angestellt worden. Es mußte nun noch der experimentelle Beweis dafür erbracht werden, daß die Methode auch für käufliche Preßhefe, die ja stets Bakterien enthält, anwendbar ist. Zu diesem Behufe war eine große Reihe von Versuchen notwendig, deren Resultate in ausführlich mitgeteilten Tabellen zusammengestellt sind. Die Prüfung mußte sich auf möglichst viele Preßhefen, nach dem alten und nach dem Lüftungsverfahren hergestellt, teils frisch und teils älter, sowie auf künstliche

1) Ztschft. f. Spiritusindustrie. No. 47. 1894.

Gemische von käuflicher Preßhefe mit Unterhefe erstrecken. Zunächst wurde noch eine Reihe von Versuchen mit wechselnden Mengen Reinzuchthefe ausgeführt, wobei sich der Uebelstand herausstellte, daß bei einer größeren Hefengabe (0,6—1,4 g Hefe zu 5 ccm einprozentiger Melitrioselösung) keine sicheren Resultate zu erzielen waren. Die bei der Digestion aus der Hefe gelösten (meist unbekannten) Stoffe wirkten ungünstig auf das Erkennen einer scharfen Reaktion bei der Prüfung mit Fehling'scher Lösung. Dieselbe Erscheinung trat ein, wenn Weinsäure als Antiseptikum zur Unterdrückung der Bakterien bei käuflicher Preßhefe, auch bei kleinerer Hefengabe, angewandt wurde. Unter dem Einflusse der Weinsäure lösten sich viel reichlicher Hefenbestandteile als in neutraler Lösung. Aus vielfachen Versuchen ergab sich schließlich, daß man ein bestimmtes Verhältnis zwischen Hefenmenge und der einprozentigen Melitrioselösung einhalten muß und zwar 0,4—0,5 g Hefe auf 10 ccm Melitrioselösung.

Ferner zeigte es sich, daß die Bakterien in der kurzen Zeit des Versuches (bis 4 Tage) ohne Einfluß waren, so daß die Anwendung eines antiseptischen Mittels als überflüssig erschien.

Aus den weiterhin angestellten Versuchen geht hervor, daß das Resultat auch wesentlich von dem physiologischen Zustand der Hefen abhängt, in welchem dieselben zur Untersuchung gelangen. So läßt sich in einem Gemisch aus alter Preßhefe und frischer Unterhefe letztere schneller nachweisen als in einem Gemisch von frischer Preßhefe mit alter Unterhefe. Verf. läßt daher hinsichtlich der quantitaven Bestimmung der Beimischung von Unterhefe die Möglichkeit offen, trotz der zahlreich untersuchten Hefen, daß mit anderen Hefen auch andere Resultate erhalten werden können.

Herzfeld [1]) modifizierte die Methode des Verf. in der Weise, daß er als kritisches Merkmal nicht die Reduktion, sondern die Messung der im Einhorn'schen Gärungssaccharometer entwickelten Kohlensäure anwandte. Es sollen sich bei Anwendung von 10 ccm einprozentiger Melitrioselösung und 1 g Hefe nach 24 Stunden mit gewöhlicher Preßhefe 2—2,5 ccm CO_2, mit einem Gemisch von 5 Proz. Unterhefe ca. 5 ccm und mit Lufthefe bis 4 ccm CO_2 entwickeln. Der Verf., welcher die Herzfeld'sche Methode einer eingehenden Prüfung unterzog, kam zu wesentlich anderen Resultaten als Herzfeld. Die abweichenden Ergebnisse dürften wohl dem Umstande zuzuschreiben sein, daß die Unterhefe in verschiedenen physiologischen Zuständen untersucht wurde, während Herzfeld über diesen Punkt spezielle Angaben nicht macht. Zur Vorprüfung kann der Verf. das Herzfeld'sche Verfahren aber trotzdem empfehlen, da es leicht und schnell auszuführen ist. Beträgt die Menge der entwickelten Kohlensäure in einem Gärungssaccharometer, dessen geschlossener Schenkel 5 ccm faßt, nur 2—2,5 ccm oder darunter, so kann man die vorliegende Hefe als rein anerkennen; steigt die Menge der Kohlensäure auf 5 ccm, so war die Hefe bestimmt mit Unterhefe gemischt. Im Zweifel ist man, wenn die entwickelte Kohlensäure zwischen 3 und 5 ccm beträgt, da die betreffende Hefe dann als unvermischte Luft-

1) Bonner Brennereiztg. 1895. 12. 1549.

hefe oder aber auch als ein Gemisch von Ober- und Unterhefe betrachtet werden kann.

Um diesen Uebelstand zu heben, wandte Verf. anstatt Melitrioselösung eine Melibioselösung an, welch letztere nach eigenem Verfahren in der Weise hergestellt wurde, daß eine mit 10prozentigem Hefewasser versetzte 10 prozentige Melitrioselösung nach der Sterilisation mit einer Reinkultur von Oberhefe vergoren wurde. Nach vollendeter Gärung wird abfiltriert, vom Alkohol befreit und mit Tierkohle entfärbt. Die auf diese Art hergestellte Melibioselösung ist rein, wenn sie mit Oberhefereinkultur keine Kohlensäureentwickelung mehr zeigt, und wenn ferner die Osazonprobe die Abwesenheit von Phenylhexosazon ergiebt. Der Gehalt der Lösung an Melibiose wird polarimetrisch festgestellt (aD = + 139). Mit gewöhnlicher Hefe entwickelte sich aber trotzdem Kohlensäure! Kontrollversuche, bei welchen anstatt Melibioselösung steriles destilliertes Wasser und zuckerfreie Nährlösung verwandt wurden, ergaben ebenfalls geringe Kohlensäureentwickelung. Dies kann sowohl durch Selbstgärung wie durch nicht absolut reines Waschen der Hefe, infolgedessen noch Zucker aus der Maische anhaftet, bedingt sein.

Wegen der Umständlichkeit der Herstellung der Melibiose (käuflich ist dieselbe nicht zu erhalten) empfiehlt der Verf. die Methode nicht, sondern giebt dem Reduktionsverfahren, das sicherer ist als die Herzfeld'sche Methode, den Vorzug.

Die Untersuchung gestaltet sich nun folgendermaßen:

I. Vorprüfung: Dieselbe kann nach der Herzfeld'schen Methode ausgeführt werden.

II. Hauptprüfung: 3mal je 10 ccm einprozentige Melitrioselösung werden mit 0,4 g der zu untersuchenden Hefe zur Gärung bei 30 ° C angestellt. Nach 1, 2, 3 Tagen unterbricht man die Gärung und versetzt 3 ccm des Filtrates mit 1 ccm Fehling'scher Lösung. Nach dem Aufkochen beobachtet man Niederschlag und Farbe der überstehenden Flüssigkeit. Ist nach 24stündiger Gärung die Flüssigkeit blau, so enthält die Hefe sicher 10 Proz. Unterhefe. Ist das gleiche nach 48 Stunden der Fall, so kann man auf eine Beimischung vön 5 Proz. oder darüber schließen. Ist die Flüssigkeit erst nach 72 Stunden blau oder schwachblau, so liegt eine Verunreinigung von etwa 1 Proz. und darüber mit Unterhefe vor. Zeigt dagegen die Lösung nach 72 Stunden eine gelbe oder braungelbe Farbe, so ist damit der Beweis geliefert, daß die Hefe vollständig frei von Unterhefe ist.

III. Quantitative Analyse: Nach eben geschildeter Methode kann der Gehalt an Unterhefe bloß geschätzt werden; für die prozentualische Bestimmung können 2 Methoden in Anwendung kommen.

A. Die Hefe wird verdünnt und in geringer Menge mit verflüssigter Würzegelatine vermischt. Nun werden Platten (Petri'sche Doppelschalen) gegossen. Die sich entwickelnden Hefekolonieen werden in mit Nährstoffen versetzte Melitrioselösung übergeimpft und in obenbeschriebener Weise geprüft und der Prozentgehalt berechnet.

B. Die zweite Methode stammt von Lindner[1]) und wurde von

1) Bonner Brennereiztg. 1891. S. 910.

dem Referenten [1]) für die quantitative Bestimmung von Unterhefe in Oberhefe ausgearbeitet. Die Hefe wird mit steriler Würze vermischt und zwar in einer solchen Verdünnung, daß sich in einem jeden Tröpfchen — man betupft mittelst Pipette ein Petrischalenpaar — nur eine Zellkolonie entwickeln kann. Aus der Anzahl der sich nach dem Zerrühren flockig absetzenden Kolonieen läßt sich der Prozentgehalt an Unterhefe leicht berechnen.

Geschwächte Hefen, die an ihrer Gärkraft eingebüßt haben, lassen sich, da sie binnen 24 Stunden nur wenig Kohlensäure entwickeln, durch die Herzfeld'sche Methode nicht analysieren, auch dürfte das Reduktionsverfahren nicht immer maßgebend sein; nur die quantitative Prüfung kann sicheren Aufschluß geben. Liegt eine Hefe vor, von der sich nur wenige Zellen oder gar keine lebensfähig erweisen, so sind auch die beiden letzten Methoden nicht brauchbar.

Aber auch hierfür hat uns der Verf. ein Verfahren gegeben. Die Hefe wird bei etwa 35 ° C im Luftstrom getrocknet, dann allmählich auf 105 ° C erhitzt, fein gemahlen und steril mit sterilisierter fruktosefreier Melibioselösung 8 Tage lang bei 25—30 ° C gehalten; sodann prüft man auf Glukosazon. Findet sich letzteres nicht, so war die Preßhefe rein, anderenfalls war sie verunreinigt. Wenn Melibiose spaltende Bakterien vorhanden sind, so ist es natürlich nicht möglich, ein sicheres Urteil abzugeben.

Anm. des Ref. (Bei der Beschreibung der Lindner'schen Methode erwähnt Verf., daß eine wilde Hefe beobachtet wurde, die sich flockig absetzt; man würde dieselbe auf Grund dieser Beobachtung nach Lindner's Verfahren zu den Unterhefen zählen müssen, wenn eben nicht das mikroskopische Bild eine wesentliche Abweichung in der Form der Zellen von gewöhnlicher Unterhefe zeigte. Auf eine ähnliche Erscheinung möchte der Referent hier aufmerksam machen, welche die von van Laer und Denamur beschriebene Hefe „Logos" [2]) zeigt. Dieselbe besitzt einen noch höheren Vergärungsgrad als der Hefetypus Frohberg ist, eine ausgesprochene Klumphefe und setzt sich daher wie Unterhefe in der gärenden Flüssigkeit flockig zu Boden, aber bei weitem voluminöser und schneller. Das Bier, welches sie liefert, besitzt obergärigen Charakter. Die Zellen, welche fast aneinander kleben, sind von mittlerer Größe. Diese Hefe verhält sich der Melitriose gegenüber wie obergärige Hefe. Nach 7tägiger Gärung bei 30 ° C ergab die Prüfung nach des Verf. Vorschrift eine vollständige Reduktion der Fehling'schen Lösung.

Nach den Angaben des Verf. muß man annehmen, daß zur Hauptprüfung nach der Reduktionsmethode entgegen der früheren Mitteilung [3]) Melitrioselösung ohne Nährstoffzusatz verwendet wurde, nur bei der Besprechung der quantitativen Analyse wird mit Nährstoffen versetzte Melitrioselösung vorgeschrieben. Referent, der die Brauchbarkeit der Methode des Verf.'s bereits früher [4]) wiederholt erproben konnte, erhielt bei weiteren Versuchen, die zum Teil eine Wieder-

1) Ztschft. f. Spiritusindustrie 1895. 18. 205.
2) Moniteur scientifique 1895. S. 499; Wochenschft. f. Brauerei. XII. 1895. 654.
3) Ztschft. f. Spiritusindustrie 1894. No. 46.
4) Ebendaselbst 1895. 18. 205.

holung jener des Verf. sind, und unter Anwendung von mit Nährstoffen versetzter Melitrioselösung ausgeführt wurden, um event. auch bei geringer Verunreinigung mit Unterhefe in kürzerer Zeit als nach 72 Stunden zu einem Ergebnis zu gelangen, keine anderen Resultate als wie der Verf. Betreffs des Einflusses der Bakterien auf das Resultat bemerkt der Referent, daß die von ihm benutzten reinen Preßhefen (a. V. und Lufthefe) während der Zeit des Versuches bis einschließlich des 6. Tages das Resultat nicht beeinflußten, obgleich bereits am 3. Tage die Gärflüssigkeit stark mit Stäbchenbakterien durchsetzt war. Erst am 8. Tage wurde das Resultat unsicher. Die filtrierte Flüssigkeit ergab mit Fehling'scher Lösung keine Reduktion mehr. Ob Melibiose spaltende Bakterien oder sonstige Zufälligkeiten das Ergebnis beeinflußt hatten, konnte nicht entschieden werden.) Munsche (Wandsbek-Hamburg).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

DR. WILHELM WINDISCH.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Ducamp, A., Cours de microbiologie, professé à la faculté de médecine de Montpellier 8⁰. fasc. 1. 135 p.

Frankland, Percy, The work of Pasteur and what it has led to. (Journ. of the Federated Instit. of Bewing. Vol. II. 1896. No. 1. p. 19.)

Hedebrand, A., Ueber das Verschimmeln des Brotes. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXV. 1895. p. 101—103.)

Hueppe, A, Naturwissenschaftliche Einführung in die Bakteriologie. gr. 8⁰. VIII, 268 p. m. 28 Holzschn. Wiesbaden (C. W. Kreidel) 1895. 6 M.

Prinsen-Geerligs, H. C., Einige chemische Sojabohnenpräparate. (Chemiker-Zeitung. Jahrg. XX. 1896. No. 9. p. 67.)

Welte, Eugen, Bemerkung zur Abhandlung von Hedebrand: Ueber das Verschimmeln des Brotes. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXV. 1895. p. 104.)

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Aderhold, Rudolf, Morphologie der deutschen Rassen von Saccharomyces ellipsoideus. (Botan. Ztg. 1895. No. 18 u. 19.)

Balbiani, E. G., Sur la structure et la division du noyau chez le Spirochona gemmipara. (Annal. de microgr. 1895. No. 6. p. 241—260.)

Bunge, R., Ueber Sporenbildung bei Bakterien. (Fortschr. d. Med. 1895. No. 20, 21. p. 813—826, 853—863.)

Lopriore, Giuseppe, Einwirkung der Kohlensäure auf die Vermehrung der Hefe und auf die Keimung der Mucosporen. (Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik. Bd. XXVIII. 1895. No. 4.)

Ottolenghi, S., Beitrag zum Studium der Wirkung der Bakterien auf Alkaloide. — Wirkung einiger Saprophyten auf die Toxicität des Strychnins. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XVIII. 1895. p. 270—275.)

Vitali, D., Ueber Oxalsäure während des Fäulnisprozesses. (L'Orosi. Bd. XVIII. 1895. p. 304—307.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Becker, H., Ein sehr beachtenswertes Ergebnis von vergleichenden praktischen Versuchen unter Anwendung von Reinhefen. (Alkohol. Jahrg. VI. 1896. No. 2. p. 21.)

Bokorny, Th., Notizen zur Kohlenstoff- und Stickstoffernährung der Pilze. (Chemiker-Ztg. Jahrg. XX. 1896. No. 9. p. 69.)

Fernbach, A., Levains et levures pures (Conférence faite à l'assemblée générale du Syndicat des Brasseurs des départments limitrophes de Paris, le 29 janvier 1896). (La Bière et les boissons fermentés. Année IV. 1896. No. 2. p. 20.)

Gibson, H. B., Ueber die Entbindung freien Stickstoffes bei der Fäulnis. (Wollny's Forschungen. Jahrg. VIII. 1895. p. 106.)

Kayser, E., Contribution à l'étude des levures de vin. (Annal. de l'Instit. Pasteur. 1896. No. 1.)

Puriewitsch, K., Ueber die Stickstoffassimilation bei den Schimmelpilzen. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. Jahrg. XIII. 1895. p. 339—345.)

Molkerei.

Leichmann, G., Ueber freiwillige Säuerung der Milch. (Milch-Ztg. Jahrg. XXV. 1896. No. 5. p. 67.)

Wüthrich u. v. Freudenreich, Ueber den Einfluß der Fütterung auf den Bakteriengehalt des Kuhkotes. (Jahresber. für 1894 der Molkereischule Rütti [Schweiz].)

Weinbereitung.

Kulisch, P., Ueber die deutschen Ausleseweine. (Weinbau u. Weinhandel. Jahrg. XIII. 1895. p. 389—390, 397—398, 409—410.)

Nitrifikation.

Godlewski, E., Zur Kenntnis der Nitrifikation. (Naturwissenschaftl. Rundschau. Bd. X. 1895. p. 605—606.)

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Belgien. Verordnung, betr. die Sterilisierung des Fleisches tuberkulöser Tiere. Vom 30. September 1895. (Veröffentl. d. kaiserl. Gesundh.-A. 1895. No. 45. p. 797.)

Inouye, M., Preparation and chemical composition of Tofu. (College of Agriculture. Bull. 2. p. 208—215.)

— —, Notes on Nukamiso. (College of Agriculture. Bull. 2. p. 216—218.)

Leufvén, Gustav G. son, Einfluß der Melkung auf den Bakteriengehalt der Milch. (Bericht über die Wirksamkeit des Landwistschaftl. Institutes zu Ultuna im Jahre 1894.) Upsala 1895.

Lintner, C. J., Ueber Konservierung von Nahrungsmitteln. Vortrag, gehalten in der Mitgliederversammlung des Polytechnischen Vereins in München am 16. Dezember 1895. (Bayer. Industrie- u. Gewerbeblatt. Jahrg. XXVIII. N. F. [82.] 1896. No. 1.)

Obermüller, Kuno, Ueber Tuberkelbacillenbefunde in der Marktmilch. (Hygien. Rundschau. Bd. V. 1895. p. 878—883.)

Piorkowski, Ueber die Einwanderung des Typhusbacillus in das Hühnerei. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXV. 1895. Heft 2. p. 145—153.)

Luft, Wasser, Boden.

Cadeddu, A., Sui vibrioni degli stagni d'acqua Salmastra. (Annali d'igiene sperim. Vol. V. 1895. fasc. 3. p. 415—430.)

Hoff, H. J. van't, Eigentümliche Selbstreinigung der Maas vor Rotterdam. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XVIII. 1895. p. 265—269.)

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Barth, M, Beobachtungen über die Gelbsucht der Reben. (Weinbau u. Weinhandel. Jahrg. XIII. 1895. No. 50. p. 453.)

Cimbal, Otto, Ueber den Abbau der Kartoffel und seine Ursachen, sowie seine Beziehungen zur Kartoffelkrankheit. (Illustr. Landwirtschaftl. Ztg. Jahrg. XVI. 1896. No. 6. p. 35.)

Frank, A. B., Die Entwickelung und Ziele des Pflanzenschutzes. Rektoratsrede zur Feier des Geburtstages Seiner Majestät des Kaisers am 26. Januar 1896. (Dtsche landwirtschaftl. Presse. Jahrg. XXIII. 1896. No. 8 u. 9.)

Rathay, Emmerich, Erklärungen bezüglich der „Gommose bacillaire“. (Die Weinlaube. Jahrg. XXVIII. 1896. No. 5. p. 49.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Kretz, Richard, Eine handliche und leicht sterilisierbare Abfüllvorrichtung für Kulturflüssigkeiten. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XIX. 1896. No. 2/3. p. 73.)

Mangin, G., Précis de technique microscopique et bactériologique. 18^{0}. Paris (Doin) 1895. 3 fr.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Aderhold, Rudolf, Ueber die Brauchbarkeit der Jansen'schen Warmwassermethode zur Verhütung des Getreidebrandes. (Der Landwirt. Jahrg. XXXII. 1896. No. 9. p. 49.)

Burkhard, G., Zwei Beiträge zur Kenntnis der Formalinwirkung. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XVIII. 1895. p. 257—264.)

Chassevant, A., Action du benzène sur les microorganismes. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1895. No. 29. p. 698—699.)

Geuther, Th., Ueber die Einwirkung von Formaldehydlösungen auf Getreidebrand. (Ber. d. pharm. Gesellsch. Bd. V. 1895. p. 325—330.)

Kneifel Rudolf, Die schwarze Blattlaus auf Samenrübenstauden und ihre Vertilgung mit Lysol. (Bl. f. Zuckerrübenbau. 1895. p. 305.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

1896. **Centralblatt** Bd. II. No. 2/3.
für Bakteriologie und Parasitenkunde.
II. Abteilung.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Prof. Dr. M. W. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. v. **Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

II. Band. Jena, den 29. Februar 1896. **No. 4.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige ***Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original-Mittheilungen.

Zur Frage der Nitrifikation im Erdboden.

[Mitteilung der landw. Versuchsstation in Bonn.]

Von

R. Burri und **A. Stutzer.**

Mit 1 Tafel.

Im Anschluß an unsere Mitteilung in No. 20/21 dieses Centralblattes Abt. II. Bd. I. über einen Nitrat bildenden Organismus stellen wir im Folgenden die weiteren Resultate und Erfahrungen zusammen, die wir bei unseren Arbeiten über Nitrifikation gewonnen haben. Der Uebersichtlichkeit halber trennen wir den Auszug unseres

Notizenmaterials in 2 Abteilungen, in der einen werden die an unreinen, flüssigen Kulturen gemachten Beobachtungen wiedergegeben, während die andere eine Besprechung der zum Zweck der Reinzucht eines Nitrit-bildenden Organismus ausgeführten Versuche zum Gegenstande hat. Thatsächlich sind die beiden Punkte nicht getrennt bearbeitet worden, sondern die unreinen flüssigen Kulturen bildeten nur das Ausgangsmaterial für die zahlreichen Reinkulturversuche. Wo es angebracht schien, haben wir weiter unten gelegentlich auf diesen Zusammenhang verwiesen.

Folgende Erdproben wurden zu den Versuchen benutzt:

Probe I aus einem Weinberg des Rutenet am Rhein, Westabhang, gegenüber von Königswinter. Die Probe ist der Quitoerde von Winogradsky insofern ähnlich, als sie direkt auf andesitischem Gestein auflagert und aus diesem durch Verwitterung hervorgegangen ist. Der Boden ist schwer und von Natur sehr fruchtbar.

Probe II aus der Feldmark des Dorfes Alfter, „Hühnerbusch" am Abhang der Ville, westlich von Bonn. Mittlerer, humoser Lößmergel, nach der v. Richthofen'schen Theorie äolischen Ursprungs, dessen Untergrund auf mehrere Meter auch Löß bildet. Der Boden zeichnet sich neben seiner natürlichen Fruchtbarkeit durch einen besonders hohen Kulturgrad aus.

Probe III. Ein humoser, tiefgründiger, kalkhaltiger, schwerer Lehmboden aus der Feldmark von Northeim, links vom Wege zwischendurch Northeim-Höckelheim entnommen, auf einer frühalluvialen Flußterrasse der Leine. Der Boden ist aus Sedimenten der Leine und Rhume hervorgegangen und zwischen durch mit Kalkteilchen, die von der umliegenden Muschelkalkhöhe stammen, überschwemmt worden.

Probe IV stammt aus dem Melaphyrgebiet bei Oberstein im Fürstentum Birkenfeld. Neben diesen 4 Proben, welche wir aus der Sammlung des agrikulturchemischen Laboratoriums der deutschen Landwirtschaftsgesellschaft bezogen hatten, gelangten später noch zur Verwendung als

Probe V. Erde aus dem Garten der hiesigen Versuchsstation und

Probe VI, eine Erde aus Deutsch-Ost-Afrika. (Aus einer Zuckerrohrplantage.)

A. Versuche mit unreinen, flüssigen Kulturen.

Die Versuchsgefäße waren Glasdosen von $5\,^1/_2$ cm Höhe und 9 cm Durchmesser, mit übergreifendem Deckel und Ausguß. Beschickt wurden diese Gefäße mit 20 ccm einer Nährsalzlösung von der Zusammensetzung

1000	g	Wasser
0,5	g	Kochsalz
1,0	g	Monokaliumphosphat
0,5	g	Magnesiumsulfat
Spur		Calciumchlorid.

Dazu wurden einige Zehntelgramm $MgCO_3$ gegeben und das Ganze im strömenden Dampf sterilisiert. Nach dem Erkalten wurden noch 1, unter Umständen 2 ccm, einer sterilen 2proz. Ammonsulfatlösung zugefügt und nun war das Substrat für die Impfung fertig. Die ersten Kulturen sind nur mit Erde der Proben I bis IV angelegt.

Stammkulturen. Je 2 in der beschriebenen Weise vorbereitete Glasdosen wurden den 3. März 1894 mit geringen Mengen der Erdenproben I bis IV geimpft. Unmittelbar nach der Impfung war in keiner der Dosen Nitrit oder Nitrat nachzuweisen. Den 27. März rief Diphenylamin und H_2SO_4 in sämtlichen Kulturen maximal starke Blaufärbung hervor und mußten deshalb in sämtlichen Proben nitrifizierende Organismen anwesend sein.

Tochterkulturen. Aus sämtlichen nitrifizierenden Stammkulturen wurden mittelst Platinöse Uebertragungen auf sterile Nährlösungen ausgeführt. Die Schichthöhe der letzteren betrug das Doppelte von derjenigen der Stammkulturen, sonst waren alle Verhältnisse dieselben. Das Resultat dieser Impfungen war ein durchaus ungünstiges. Nach 14 Tagen war noch in keiner der Kulturen Nitrifikation nachzuweisen. Wir glaubten der zu hohen Flüssigkeitsschicht (0,6 cm) die Schuld geben zu müssen und versetzten den Schaleninhalt mit ausgekochtem, zerkleinertem und sterilisierten Bimstein, um den Zutritt von Sauerstoff zu erleichtern. Nach weiteren 8 Tagen war aber immer noch keine Spur einer Reaktion zu erzielen, und da nun seit der Impfung über 3 Wochen verflossen waren, betrachteten wir diese Kulturserie als verunglückt und stellten uns von Neuem die gleiche Anzahl von Tochterkulturen her, diesmal unter genauer Innehaltung der für die Stammkulturen angewendeten Verhältnisse. Als Impfmaterial dienten je 2 Oesen voll des umgeschüttelten Inhaltes der betreffenden Stammkulturen.

Prüfungen mit Diphenylamin und H_2SO_4 ergaben

nach 1 Woche in keiner Schale Reaktion,
„ 2 Wochen Spur bei allen Kulturen,
„ 3 „ schwache Reaktion bei allen Kulturen,
„ 5 „ ebenso, II scheinbar am stärksten,
„ 7 „ ebenso,
„ 11 „ bei II maximal starke Reaktion, bei sämtlichen übrigen Kulturen schwache Reaktion.

Kräftige Nitrifikation war also doch erfolgt, vorläufig nur in einer Kultur (II) und mit außerordentlicher Verzögerung. Es mußte dies um so mehr überraschen, als bei den Stammkulturen schon nach 24 Tagen durchwegs maximale Reaktion nachzuweisen war. Daß bei den Tochterkulturen nicht etwa das Nährmaterial ungeeignet war, bewies eine Parallelkultur mit Aussaatmaterial, das aus Gartenerde der Versuchsstation stammte (eine Tochterkultur 4. Generation). Diese zeigte nach 14 Tagen starke Reaktion, nach 19 Tagen maximal starke, während von den ursprünglich vorhandenen 40 mg Ammonsulfat nichts mehr nachzuweisen war. Das Impfmaterial für obige Serie von Tochterkulturen mußte demnach irgend welche ungünstigen Eigenschaften haben, deren Ursache wir auf die Beschaffenheit der

verwendeten Erdproben zurückführen konnten. Die letzteren befanden sich nämlich bei ihrer Ankunft in einem Zustande vorgeschrittener Austrocknung, so daß die Erde mit Leichtigkeit zwischen den Fingern sich zu Staub zerreiben ließ. Die nitrifizierenden Bakterien, und zwar speziell die Nitritbildner, waren voraussichtlich in den Proben nur in der Form des von Winogradsky beschriebenen Zoogloeastadiums vorhanden und verdankten diesem ihre Lebensfähigkeit. Solche Zoogloeen beherbergten aber die Proben in genügender Zahl, um die Oxydation von 40 mg Ammonsulfat in der für die Stammkulturen angegeben Zeit von 24 Tagen zu bewältigen, während eine Ueberimpfung von einer Oese der Stammkultur auf leicht erklärliche Weise vielleicht gar keinen Erfolg haben konnte oder eine sehr verzögerte Nitrifikation wahrscheinlich erscheinen ließ. Das für Zwecke der Reinzucht wenig aussichtsvolle Verhalten der Tochterkulturen I bis IV bewog uns, dieselben aufzugeben und die Versuche mit den Stammkulturen fortzusetzen. Die Stammkulturen waren seinerzeit doppelt angesetzt, so daß wir nun die Hälfte für Versuche bezüglich Nitritbildung, die andere für Versuche bezüglich Nitratbildung zur Verfügung hatten.

a) Nitritbildung.

Nachdem die ersten 40 mg Ammonsulfat oxydiert waren, verblieben die Stammkulturen 4 Wochen lang bei 30° C in Ruhe und wurden von Zeit zu Zeit, um das Eintrocknen zu vermeiden, durch steriles Wasser auf dem ursprünglichen Volumen erhalten. Den 25. April erhielt von neuem jede Kultur 40 mg Ammonsulfat und nach dessen Oxydation bzw. Verschwinden wurden die Zugaben erneuert. Tabelle 1 zeigt das Verhalten der einzelnen Kulturen.

R. = Reaktion mit Nessler's Reagens;
A. = Zusatz von Ammonsulfat.

Tabelle 1.

geprüft nach	Kultur Ia	Kultur IIa	Kultur IIIa	Kultur IVa
14 Tagen	schwache R.	schwache R.	starke R.	Spur
20 „	keine R. 40 mg A.	keine R. 40 mg A.	schwache R. 40 mg A.	keine R. 40 mg A.
weiteren 14 Tagen	keine R.	keine R.	schwache R.	Spur
18 „	keine R. 40 mg A.	keine R. 40 mg A.	Spur 40 mg A.	keine R. 40 mg A.
weiteren 14 „	keine R. 40 mg A.	keine R. 40 mg A.	starke R. —	keine R. 40 mg A.
weiteren 14 „	keine R. 40 mg A.	keine R. 40 mg A.	keine R. 40 mg A.	keine R. 40 mg A.
weiteren 14 „	keine R. 40 mg A.	keine R. 40 mg A.	starke R. 40 mg A.	keine R. 40 mg A.
weiteren 4 Wochen	keine R.	keine R.	keine R.	keine R.

Demnach hatten die Kulturen I, II und IV nach der 2. Zugabe von 40 mg Ammonsulfat eine gewisse Regel-

mäßigkeit in der Weise erzielt, daß je in 14 Tagen 40 mg Ammonsulfat oxydiert wurden. Bei Kultur III konnte diese Energie auch nach der 5. Zugabe noch nicht konstatiert werden und es waren immer mehr als 14 Tage für die gleiche Leistung erforderlich. Ob dieses Verhalten auf eine Verschiedenheit der Leistungsfähigkeit der aus verschiedenen Gegenden stammenden Nitrit bildenden Organismen zurückzuführen sei, ließen wir vorläufig dahingestellt, da solche Fragen nur an Hand von Reinkulturen entschieden werden sollten. Ebenso legten wir vorläufig keinen Wert darauf, den Zeitpunkt der vollendeten Oxydation für die Kulturen I, II und IV genauer zu ermitteln, sondern begnügten uns mit der obigen Feststellung.

b) Nitratbildung.

Die den vorhin besprochenen parallelen Stammkulturen Ib, IIb, IIIb und IVb blieben nach Oxydation der ersten 40 mg Ammonsulfat ebenfalls 4 Wochen bei 30° C stehen. Nach dieser Zeit ergab eine Prüfung mittelst Jod-Cadmium-Stärke bei

Ib	IIb	IIIb	IVb
maximale Reaktion	Spur	Spur	Spur

Tabelle 2.

Datum der Prüfung	Kultur Ib	Kultur IIb	Kultur IIIb	Kultur IVb
2. Mai	20 mg $NaNO_2$ zuges.	20 mg $NaNO_2$ zuges.	20 mg $NaNO_2$ zuges.	20 mg $NaNO_2$ zuges.
9. Mai	starke R.	starke R.	keine R.	keine R.
	—	—	20 mg $NaNO_2$ zuges.	20 mg $NaNO_2$ zuges.
15. Mai	schwache R.	schwache R.	starke R.	Spur
20. Mai	keine R.	keine R.	keine R.	keine R.
	20 mg $NaNO_2$ zuges.	20 mg $NaNO_2$ zugez.	20 mg $NaNO_2$ zuges.	20 mg $NaNO_2$ zuges.
24. Mai	starke R.	keine R.	keine R.	keine R.
	—	20 mg $NaNO_2$ zuges.	20 mg $NaNO_2$ zuges.	20 mg $NaNO_2$ zuges.
26. Mai	starke R.	keine R.	keine R.	keine R.
	—	20 mg $NaNO_2$ zuges.	20 mg $NaNO_2$ zuges.	20 mg $NaNO_2$ zuges.
27. Mai	starke R.	starke R.	keine R.	starke R.
28. Mai	starke R.	keine R.	keine R.	keine R.
	—	20 mg $NaNO_2$ zuges.	20 mg $NaNO_2$ zuges.	20 mg $NaNO_2$ zuges.
30. Mai	starke R.	keine R.	keine R.	keine R.
	—	20 mg $NaNO_2$ zuges.	20 mg $NaNO_2$ zuges.	20 mg $NaNO_2$ zuges.
1. Juni	starke R.	keine R.	keine R.	keine R.
	—	20 mg $NaNO_2$ zuges.	20 mg $NaNO_2$ zuges.	20 mg $NaNO_2$ zuges.
3. Juni	starke R.	keine R.	keine R.	keine R.
	—	20 mg $NaNO_2$ zuges.	20 mg $NaNO_2$ zuges.	20 mg $NaNO_2$ zuges.
5. Juni	starke R.	keine R.	keine R.	keine R.
	—	20 mg $NaNO_2$ zuges.	20 mg $NaNO_2$ zuges.	20 mg $NaNO_2$ zuges.
7. Juni	starke R.	keine R.	keine R.	keine R.
	—	40 mg $NaNO_2$ zuges.	40 mg $NaNO_2$ zuges.	40 mg $NaNO_2$ zuges.
9. Juni	starke R.	starke R.	starke R.	starke R.
10. Juni	starke R.	keine R.	keine R.	keine R.

Die nämlichen Kulturen zeigten aber maximale Reaktion mit Diphenylamin und H_2SO_4. In den nach vollendeter Ammoniakoxydation verlaufenen 4 Wochen ist demnach bei diesen Kulturen sämtliches gebildete Nitrit in Nitrat umgewandelt worden. Kultur I hingegen gab noch starke Nitritreaktion und erwies sich in der Folge als untauglich für weitere Nitratproduktion. Es sollten nun vorläufig noch eine Reihe von Oxydationen von je 20 mg $NaNO_2$ durchgeführt werden, um eine möglichst starke Anreicherung der Nitrat bildenden Organismen zum Zwecke der Reinzucht zu erzielen. R. bedeutet in der folgenden Tabelle 2 = Reaktion mit Jod-Cadmium-Stärke.

Die Tabelle zeigt, daß Kultur I die Nitratbildung schon nach der ersten Nitritzugabe eingestellt hatte; um so lebhafter ging der Oxydationsprozeß in den 3 übrigen Kulturen vor sich. Nachdem 3 mal 20 mg $NaNO_2$ oxydiert worden waren, konnte mit großer Regelmäßigkeit nach je 2 Tagen wieder neues Nitrit zugegeben werden. Zuletzt war es sogar möglich, in 3 Tagen 40 mg, in 1 Tage sonach 13,3 mg $NaNO_2$ verschwinden zu lassen. Kultur III hatte einmal schon nach 24 Stunden 20 mg $NaNO_2$ oxydiert. Wir konnten also feststellen, daß die Kulturen II, III und IV imstande waren, 20 mg Natriumnitrit in 1 bis 2 × 24 Stunden zu Natriumnitrat zu oxydieren.

Mit den Nitratbildner-Tochterkulturen hatten wir einen besseren Erfolg als mit Nitritbildner-Tochterkulturen. Benutzt wurden die gleichen Kulturgefäße wie bei den Stammkulturen. Die Nährlösung enthielt 1 ‰ $NaNO_2$ an Stelle des Ammoniaksalzes. Der Schaleninhalt wurde mit einer Platinnadelspitze voll Material aus dem Bodensatz der Kulturen IIIb und IVb geimpft, als dieselben bereits 60 mg Nitrit oxydiert hatten und kein Ammoniak mehr enthielten. Nach 6 Tagen war die Nitritreaktion noch sehr stark, nach weiteren 5 Tagen jedoch verschwunden, worauf wieder 20 mg zugegeben wurden. Jetzt umfaßte die für die Oxydation nötige Zeit nur 4 Tage und die nun von neuem zugegebene Menge von 20 mg $NaNO_2$ war in 2 Tagen oxydiert. Die beiden Tochterkulturen besaßen nun in Bezug auf chemische Leistungsfähigkeit annähernd den Charakter der Stammkulturen und wurden mit diesen weiter geführt. In einem Tage die 20 mg zu oxydieren gelang indessen weder mit Tochterkultur IIIb, noch mit Tochterkultur IVb. Von dieser ersten Generation von Tochterkulturen wurde sodann eine 2. angelegt. Nach der ersten Ueberimpfung dauerte es bei IIIb 8, bei IVb 10 Tage bis zum Verschwinden der 20 mg Nitrit, aber schon nach der 3. Zugabe war der Gang der Oxydation ein regelmäßiger wie in den Stammkulturen. Impft man eine nitrithaltige Nährsalzlösung mit einer Spur Erde, oder mit einem Tröpfchen einer in lebhafter Thätigkeit befindlichen Nitratbildnerkultur, so dauert es immer längere Zeit (8 bis 14 Tage) bis eine Menge von ungefähr 1 ‰ Nitrit oxydiert ist, nach einigen erneuerten Zugaben aber nimmt die Oxydation einen sehr regelmäßigen Gang an, so daß in 24 bis 2 × 24 Stunden 1 ‰ Nitrit in

Nitrat umgewandelt wird. Die gleiche Beobachtung wurde seinerzeit auch von Winogradsky gemacht.

Begreiflicherweise müssen die lange fortgeführten Kulturen durch zu große Anhäufung von Nitrit oder Nitrat leiden und in der That stellten sich früher oder später Unregelmäßigkeiten im Sinne einer Verzögerung ein, so bald der Gehalt von Nitrit oder Nitrat die Menge von 20 g per Liter Flüssigkeit überschritten hatte. Besonders machte sich dieses bei den Kulturen der Nitratbildner-Tochterserie bemerkbar.

c) Weitere Versuche.

Es sei vorausgeschickt, daß es uns an der Hand der vorhin erwähnten Nitrat bildenden Kulturen nicht gelungen war, den oxydierenden Organismus rein zu züchten. Wir gingen daher nochmals darauf aus, energische Nitratbildnerkulturen zu erhalten, und versuchten dies mit den nun schon sehr alten, trockenen Erdproben II, III und IV. I ließen wir aus dem Grunde weg, weil die Probe schon früher sich als ungünstig für diese Zwecke erwiesen hatte. Gleichzeitig suchten wir die bei der ersten Tabelle über Nitritbildung angegebenen Grenzen in Bezug auf die in einer gewissen Zeit geleistete Arbeit etwas enger zu ziehen.

Damals wurde festgestellt, daß bei regelmäßigem Gange innerhalb 14 Tagen per 25 ccm Nährlösung 40 mg Ammonsulfat oxydiert wurden. Später beobachteten wir bei Prüfung einer Erdprobe aus dem Garten der Versuchsstation auf ihre Nitrifikationsfähigkeit, daß die Stammkultur 14 Tage nach der Impfung vollständig ammoniakfrei war, daß weitere 20 mg Ammonsulfat in 10 Tagen, weitere 20 mg in 8 Tagen, weitere 20 mg in 6 und sogar in 4 Tagen oxydiert wurden. Prüften wir nach kürzerer Zeit auf NH_3, so war immer noch welches vorhanden. Die Resultate dieser Kulturserie belehrten uns, daß wir auch für die genannten Proben II, III und IV wahrscheinlich zu viel niedrigeren Zeitgrenzen gelangen würden, was durch eine öftere Prüfung der Versuchsflüssigkeiten festgestellt werden konnte. Zudem schien es vorteilhafter zu sein, auf einmal nur 20 mg, anstatt wie früher 40 mg Ammonsulfat zuzugeben.

In der Tabelle 3 sind die Resultate einer neuen mit den genannten Proben angesetzten Versuchsreihe zusammengestellt. Gleichzeitig wurde eine Probe einer afrikanischen Erde mit in die Untersuchung hineingezogen, die als VI bezeichnet ist.

Die Kulturgefäße waren wie früher Glasdosen mit übergreifendem Deckel; die Nährlösung bildete eine niedere (0,3—0,4 cm Schicht) und die Ammoniakzufuhr erfolgte in Form einer 2-proz. Ammonsulfatlösung mittels steriler Pipette. Die Kulturen wurden als Parallelkulturen (mit a und b bezeichnet) geführt und waren den 4. Jan. 1895 mit Spuren der erwähnten Erdproben geimpft. Die folgende Zusammenstellung illustriert die Energie, mit welcher von Seiten der Organismen in den einzelnen Kulturen gearbeitet wurde.

R. = Reaktion mit Nessler's Reagens;
A. = Zusatz von Ammonsulfat.

Tabelle 3 *.

Datum der Prüfung	II a) und b)	III a) und b)	IV a) und b)	VI a) und b)
19. Januar	a) u. b) starke R. —	a) u. b) keine R. 20 mg A.	a) u. b) keine R. 20 mg A.	a) u. b) keine R. 20 mg A.
28. Januar	a) u. b) starke R. —	a) u. b) keine R. a) u. b) 20 mg A.	a) keine R. b) schwache R. a) u. b) 20 mg A.	a) u. b) keine R. a) u. b) 20 mg A.
5. Februar	a) Spur R. b) keine R. a) u. b) 20 mg A.	a) Spur R. b) keine R. a) u. b) 20 mg A.	a) Spur R. b) starke R. a) 20 mg A.	a) keine R. b) starke R. a) 20 mg A.
13. Februar	a) u. b) starke R. —	a) Spur R. b) keine R. a) u. b) 40 mg A.	a) u. b) keine R. a) u. b) 40 mg A.	a) u. b) keine R. a) u. b) 40 mg A.
1. März	a) starke R. b) Spur R. —	a) Spur R. b) keine R. —	a) starke R. b) starke R. —	a) u. b) keine R. a) u. b) 20 mg A.
9. März	a) keine R. b) keine R. a) u. b) 20 mg A.	a) keine R. b) keine R. a) u. b) 20 mg A.	a) keine R. b) keine R. a) u. b) 20 mg A	a) keine R. b) keine R. a) u. b) 20 mg A.
16. März	a) u. b) starke R.	a) u. b) keine R.	a) Spur R. b) keine R.	a) u. b) keine R.

Zu dieser Zeit wurden die Kulturen IIa, IIIa, IVa und VIa ausgeschaltet, um für andere Zwecke verwendet zu werden. Den übrigen wurde wie bisher von Zeit zu Zeit Ammoniaksalz zugegeben, um womöglich die maximale Leistung der einzelnen festzustellen.

Ein Blick auf diese Zusammenstellung zeigt, daß die einzelnen Kulturen im Anfang mit sehr verschiedener Intensität oxydierten, daß die Differenzen in den Leistungen aber mit fortschreitender Zeit geringer wurden, um sich endlich am Ende der Versuchsdauer vollständig auszugleichen. Namentlich war es Kultur IIb welche anfänglich in auffälliger Weise hinter den übrigen zurückblieb, jedoch gegen das Ende der Versuchsdauer soweit erstarkte, daß eine Zugabe von 20 mg $(NH_4)_2SO_4$ wie bei den anderen innerhalb 2 $\times$ 24 Stunden oxydiert wurde. Ob nachträglich die Leistungsfähigkeit auch auf die Oxydation von 40 mg in 3 Tagen hätte gesteigert werden können, unterließen wir bei IIb zu untersuchen. Aus dem Verhalten von IIIb, IVb und VIb zu schließen, dürfte eine solche Annahme wohl gerechtfertigt sein. Aber auch abgesehen von dieser Annahme sind sich die Endresultate der einzelnen Kulturen so nahe gerückt, daß dieses Zusammentreffen kaum ein zufälliges sein kann. Im Gegenteil, speziell bei IIb, IVb und VIb läßt sich verfolgen, wie die für die Oxydation von 20 mg $(NH_4)_2SO_4$ erforderliche Zeit immer kleiner wird, um zuletzt ein gewisses Minimum nicht zu überschreiten. Und dieses Minimum ist für die genannten Kulturen das gleiche. Hätten wir es im vorliegenden Falle mit Reinkulturen zu thun, so wären wir zu der Schlußfolgerung berechtigt: Die quantitative Leistung in Bezug auf Ammoniakoxydation ist nicht wesentlich verschieden bei Nitritbildnern, von denen 3 aus ver-

Tabelle 3 **.

Datum der Prüfung	II b	III b	IV b	VI b
16. März	—	20 mg A.	20 mg A.	20 mg A.
20. März	keine R. 20 mg A.	starke R. —	keine R. 20 mg A.	keine R 20 mg A.
23. März	starke R. —	keine R. 20 mg A.	keine R. 20 mg A.	schwache R. 20 mg A.
26. März	keine R. 20 mg A.	starke R. —	keine R. 20 mg A.	Spur R. 20 mg A.
28. März	nicht geprüft	nicht geprüft	keine R.	starke R.
29. März	starke R. —	keine R. 20 mg A.	keine R. 20 mg A.	keine R. 20 mg A.
2. April	keine R. 20 mg A.	keine R. 20 mg A.	keine R. 20 mg A.	keine R. 20 mg A.
3. April	maximale R. —	maximale R. —	starke R. —	maximale R. —
4. April	maximale R. —	starke R. —	keine R. 20 mg A.	starke R. —
5. April	schwache R. —	keine R. 20 mg A.	schwache R. —	keine R. 20 mg A.
6. April	keine R. 20 mg A.	starke R. —	keine R. 20 mg A.	starke R. —
7. April	starke R. —	keine R. 20 mg A.	schwache R. —	schwache R. —
8. April	starke R. —	starke R. —	keine R. 20 mg A.	keine R. 20 mg A.
9. April	schwache R. —	keine R. 20 mg A.	schwache R. —	starke R. —
10. April	keine R. 20 mg A.	starke R. —	keine R. 40 mg A.	keine R. 40 mg A.
13. April	keine R. 20 mg A.	keine R. 40 mg A.	keine R. 40 mg A.	Spur R. 40 mg A.
16. April	keine R. 20 mg A.	keine R. 20 mg A.	keine R. 20 mg A.	Spur R. 20 mg A.
17. April	starke R. —*	schwache R. —	schwache R. —	starke R. —
18. April	schwache R.	keine R. 20 mg A.	keine R. 20 mg A.	keine R. 20 mg A.
19. April	keine R.	schwache R.	schwache R.	schwache R.
20. April	20 mg A.	keine R. 20 mg A.	keine R. 20 mg A.	keine R. 20 mg A.
21. April	starke R.	schwache R.	schwache R.	schwache R.
22. April	keine R.	keine R.	keine R.	keine R.

schiedenen Gegenden Deutschlands und der eine aus Afrika stammen. Wir glauben aber auch ohnehin unsere Resultate in diesem Sinne deuten zu dürfen, denn wir konnten uns oft überzeugen, daß der Nitrifikationsprozeß in flüssigen Kulturen durch die Gegenwart gewöhnlicher Saprophyten nur wenig beeinträchtigt wird und zwar um so weniger, je länger derselbe im Gange ist. Die Anhäufung von Nitrit- bzw. Nitratbildnern in der Nährlösung wird übrigens das ihrige beitragen, um die verunreinigenden Arten an einer ausgiebigen Entwickelung zu hindern. Wenn Kultur IIb sich nun sehr langsam zu der Arbeitsleistung der übrigen Kulturen aufschwingen konnte, so lag der Grund wahrscheinlich darin, daß der Nitritbildner speziell in dieser Kultur einen härteren Kampf gegen schädliche Einflüsse zu bestehen hatte, als die Nitritbildner in IIIb, IVb und VIb.

Was die Gesamtmenge des während der Versuchsdauer vom 4. Jan. bis 22. April oxydierten Ammoniaksalzes betrifft, so beläuft sich dieselbe bei

Kulter	IIb	auf	220	mg, entsprechend	per Liter	11	g
„	IIIb	„	360	„ „	„ „	18	„
„	IVb	„	440	„ „	„ „	22	„
„	VIb	„	440	„ „	„ „	22	„

Die maximale Arbeit beziffert sich bei den 3 letzten Kulturen auf 40 mg in 3 Tagen per 20 ccm Kulturflüssigkeit, also per Liter und Tag auf 0,665 g Ammonsulfat.

Bei dieser Versuchsserie wurde die Intensität der Nitratbildung im besonderen nicht verfolgt, wohl aber konnten interessante Beobachtungen über das gegenseitige Verhältnis von Nitrit- und Nitratbildung bei ein und derselben Kultur gemacht werden.

Den 16. März zeigten die Stammkulturen vom 4. Jan. 1895 sehr starke Nitritreaktion mit Ausnahme von IIa und IVa. Es wäre nicht überraschend gewesen, wenn zu dieser Zeit sämtliche Kulturen maximale Nitritreaktion ergeben hätten, denn seit der Impfung der Stammkulturen waren die Ammoniakzugaben meist in so kurzen Zwischenräumen erfolgt, daß die Nitratbildner mit der Oxydation des einmal gebildeten Nitrits kaum zu Ende sein konnten, als ihnen schon wieder neue durch den Nitritbildner gelieferte Nitritmengen geboten wurden. Ein Blick auf die Tabelle 3* zeigt allerdings, daß Kultur IIa vom 5. Febr. bis zum 9. März keinen Ammoniakzusatz erhalten hat, dieser Zeitraum konnte aber genügen, um den Nitritbildner so erstarken zu lassen, daß er die später zugeführten Nitritmengen in dem Maße oxydierte, in welchem sie gebildet waren. Für Kultur IVa dauerte der längste Zeitraum zwischen zwei Ammoniakzugaben vom 13. Febr. bis 9. März, also 24 Tage und auch hier wird die Energie der Nitratbildung aus der langen Pause zu erklären sein. Immerhin müssen IIa und IVa sich noch in besonders günstigen Verhältnissen in Bezug auf die ursprüngliche Anzahl der in die Nährflüssigkeit gebrachten Nitrit oxydierenden Organismen befunden haben, denn die Parallelkulturen IIb und IVb gaben den 16. März und noch viele Tage später sehr starke Nitritreaktion.

Ein besonderes Interesse beanspruchen die genannten Kulturen IIa und IVa dadurch, daß sie den Prozeß der Ammoniakoxydation

in derjenigen Form veranschaulichen, wie er sich im Ackerboden abspielt, d. h. ohne wesentliche Nitritbildung. Als nämlich Kultur IIa den 16. März keine Nitritreaktion gab, wies eine Prüfung mit Nessler's Reagens noch große Mengen von Ammoniak nach. Die Kultur war also noch mitten in der Oxydation begriffen und wurde scheinbar das Ammoniak direkt in Nitrat übergeführt. Den 20. März war sämtliches NH_3 verschwunden; es wurden wieder 20 mg zugegeben und nun jeden Tag auf Anwesenheit von Nitrit einerseits und Abwesenheit von NH_3 andererseits geprüft. Bis zum 26. März war täglich das gleiche Resultat zu verzeichnen: kein Nitrit, NH_3 verschwunden. Somit war die zugegebene Ammoniakmenge entweder direkt in Nitrat übergeführt worden, oder das Nitrit wurde in demselben Maße, wie es vom Nitritbildner der Kultur geliefert wurde, vom Nitratbildner derselben Kultur oxydiert. Vielleicht hätte durch eine stündlich wiederholte Prüfung auf Nitrit vorübergehend das Vorhandensein desselben sich nachweisen lassen.

Kultur IVa zeigte ein ähnliches Verhalten, doch überwog hier die Energie der Nitritbildung diejenige der Nitratbildung um ein ganz geringes, so daß während der Dauer der Ammoniakoxydation das Vorhandensein von Nitrit immer deutlich nachgewiesen werden konnte. Wir entnehmen aus unseren Notizen beispielsweise folgendes:

Kultur IVa den 16. März 20 mg $(NH_4)_2SO_4$ zugegeben.

1. Prüfung	17. März	Nitrit-R.	vorhanden
		Ammon.-R.	„
2. „	18. „	Nitrit-R.	„
		Ammon.-R.	„
3. „	19. „	Nitrit-R.	„
		Ammon.-R.	„
4. „	20. „	keine Nitrit-R.	
		keine Ammon.-R.	

Kultur IVa den 20. März 20 mg $(HN_4)_2SO_4$ zugegeben.

1. Prüfung	21. März	Nitrit-R.	vorhanden
		Ammon.-R.	„
2. „	22. „	Nitrit-R.	„
		Ammon.-R.	„
3. „	23. „	keine Nitrit-R.	
		Ammon.-R. Spur	
4. „	24. „	keine Nitrit-R.	
		keine Ammon.-R.	

Vier Tage nach der Zugabe am 16. März war das Ammoniak verschwunden, mit ihm auch das Nitrit, die Nitratbildung mußte daher der Nitritbildung auf dem Fuße gefolgt sein. In der darauf folgenden Oxydationsperiode hat dann die Energie der Nitratbildung noch um so viel zugenommen, daß kurz vor Aufbrauch des Ammoniaks sämtliches gebildete Nitrit in Nitrat übergeführt war. In diesem letzten Abschnitt der Oxydationsperiode arbeitete demnach Kultur IVa genau wie Kultur IIa vom Zeitpunkte der Ammoniakzugabe bis zur vollendeten Oxydation.

Schon Winogradsky hat darauf hingewiesen, daß man es in der Hand habe, nitrifizierende Kulturen in künstlichen Nährlösungen in der Weise zu führen, daß aus dem zugesetzten Ammoniak ohne nachweisbare dauernde oder vorübergehende Nitritbildung direkt Nitrat entsteht. Wir sind im Laufe unserer Arbeiten wie die angeführten Beispiele zeigen, zu solchen Kulturen gelangt, ohne daß wir uns die Gewinnung derselben als besonderes Ziel gestellt hatten.

(Schluß folgt.)

Weitere Mitteilungen über Cladothrix odorifera.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität München.]

Von

Dr. Rullmann.

Als Fortsetzung meiner im Jahre 1895 über Cladothrix erschienenen Arbeit, über welche auch in diesem Blatte p. 884—85 im gleichen Jahre referiert wurde, sei mir gestattet, einige vorläufige Notizen zu bringen.

Zunächst führe ich an, daß es mir inzwischen gelungen ist, in mehreren Erden Cl. odorifera wieder zu finden, und zwar mit den gleichen Eigenschaften, wie solche früher geschildert wurden.

Ferner fand ich auf mehreren Platten, welche aus derselben Erde gegossen waren, gleichzeitig Cl. odorifera neben Cl. dichotoma. Da beide gleiche Wuchsformen haben, so wurden sie erst durch Reinkultur auf Nährgelatine differenziert, da sie sich hierauf ganz verschieden verhalten. Während die Cl. odorifera die Gelatine gar nicht bräunt und den früher erwähnten so charakteristischen Erdgeruch entwickelt, färbt Cl. dichotoma schon nach ganz kurzer Zeit (2 Tage) Gelatine braun und entwickelt keinerlei Geruch.

Da ich bei später zu erwähnenden Arbeiten über den den Cladothrixarten günstigsten Nährboden auch Brotbrei und verdünnten Stärkekleister in Betracht gezogen und gefunden hatte, daß beide hervorragend zur Ernährung geeignet seien, so hat sich bei den mit den genannten Cladothricheen auf diesen Nährmedien angestellten Versuchen das bemerkenswerte Resultat ergeben, daß auch Cl. dichotoma hierauf Erdgeruch sehr reichlich erzeugt. Besonders hervorzuheben ist, daß hierbei eine massenhafte Conidienbildung auf den Oberflächenkolonieen eintritt; eine Eigenschaft der Cl. dichotoma, welche bei ihrer Kultur auf Gelatine nicht zu beobachten ist, da die Kolonieen nach eingetretener ganz langsamer Verflüssigung zu Boden sinken, während Cl. odorifera bei ihrem großen Sauerstoffbedürfnis auch hier die früher geschilderten kreideweißen Oberflächenkolonieen bildet.

Da ich annehme, daß Cl. odorifera nur eine Abart der in Gewässern vorkommenden, schon lange bekannten dichotoma ist und letztere durch Anpassung an ihren Nährboden allmählich die

chemisch-biologischen Eigenschaften der odorifera annimmt, so hoffe ich durch im Gange befindliche Versuche solches beweisen zu können und behalte mir Berichterstattung darüber vor.

Sicher ist aber jetzt, daß der Erdgeruch nur von der Einwirkung der Cl. odorifera herstammt und wenn es mir erst nach vielen vergeblichen Untersuchungen möglich war, in einer Erdprobe wieder Cladothrix zu finden, so hat dies seinen Grund darin, daß die gewöhnlich spärlichen Cladothrixkolonieen auf der Platte von anderen meist leicht verflüssigenden Kolonieen überwuchert werden und sich so der Beobachtung entziehen. Es bedarf daher zur Ergreifung der Cladothrix einer gewissen Uebung.

Ist aber einmal der Geruch in einer Erde erzeugt und die Cladothrix nicht mehr auffindbar, so haftet er doch sehr lange an derselben. Die Erde kann lange Zeit ganz staubtrocken und geruchlos sein, bringt man dann aber nur wenige Tropfen Wasser mit der Spritzflasche darauf, so tritt der Geruch in stärkster Weise wieder hervor.

Diese Eigenschaft haben wir im Frühjahre zu beobachten Gelegenheit, wenn der Landmann das ausgeruhte Feld umackert und dann vielleicht noch ein gelinder Regen die gelockerten Poren durchdringt.

Die gedachte Erscheinung beobachtete ich auch an einer Blumenerde, welche im angefeuchteten Zustande den charakteristischen Geruch hatte; absichtlich eingetrocknet und über ein Jahr unbefeuchtet stehen gelassen, trat dann bei folgender jedesmaligen Befeuchtung einer Probe der Geruch wieder hervor.

Zur Erklärung des Verschwindens der Cladothrix, während der Erdgeruch bestehen bleibt, vermag das Verhalten einer Mischkultur beizutragen; eine solche aus Bouillonkulturen von Bacill. anthracoid. und Cl. odorifera, wobei erstere im Ueberschuß, angelegt, zeigte nach Verlauf von 14 Tagen kaum noch einen färbbaren Cladothrixfaden, während der Erdgeruch geblieben war.

Zweifellos verhält es sich ebenso mit anderen Mischkulturen.

Die stark nitrifizierenden Eigenschaften der Cl. odorifera sind schon früher von mir hervorgehoben worden.

Auch gegen chemische Agentien und besonders Desinfektionsmittel scheint Cladothrix sehr widerstandsfähig zu sein; eine $^1/_{1000}$ Sublimatlösung vermochte nach 24-stündiger Behandlung von Oberflächenkolonieen sowohl als von zu Boden gesunkenen bei Zimmertemperatur die weitere Fortpflanzungsfähigkeit nicht zu zerstören. Nach Entfernung der Sublimatlösung wurden die sich abgesetzt habenden Kolonieen mit sterilem Wasser abgewaschen und dann Platten in 3 Verdünnungen angelegt, welche schon nach 2 Tagen reichliches Wachstum und nach weiteren 4 Tagen Erdgeruch zeigten. Während die Plattenkolonieen das gewohnte Aussehen zeigten, gab ein mikroskopisches Präparat in den ersten Tagen andere aus Kurz- und Längsstäbchen mit stellenweiser kolbiger Verdickung bestehende Wuchsformen. Nach 8—10 Tagen aber erschienen die bekannten verzweigten Fäden wieder.

Baldiger weiterer Bericht über die noch schwebenden Untersuchungen wird folgen.

München, 12. Januar 1896.

Referate.

Günther, Carl und **Thierfelder, Hans**, Bakteriologische und chemische Untersuchungen über die spontane Milchgerinnung. (Archiv für Hygiene. Bd. XXV. Heft 2. p. 164—195.)

Die Verff. kommen zu folgenden Resultaten:

In den untersuchten Proben spontan sauer gewordener Milch fanden Verff. konstant eine, und zwar nur eine bestimmte Bakterienart, welche in sterile Milch geimpft, dieselbe unter starker Säuerung zur Gerinnung brachte.

Die Bakterienart stellt kleine (1,0 μ lange, 0,5—0,6 μ dicke), an den Enden meist lanzettförmig zugespitzte Stäbchen ohne Eigenbewegung dar, die meist zu zweien vorhanden sind, oder auch in kleine Ketten angeordnet vorkommen, hier und da auch haufenartige Konglomerate bilden.

Sporenbildung wurde nicht beobachtet. Die Stäbchen färben sich nach der Gram'schen Methode.

Die Stäbchen lassen sich auf künstlichen Nährböden, und zwar unter aëroben Bedingungen ebenso wie unter anaëroben züchten; sie wachsen am besten bei etwa 28° C, bei 37° C etwas weniger gut, bei 21—24° C noch weniger gut.

Auf den gewöhnlichen, zuckerfreien Nährböden ist das Wachstum erheblich weniger gut, als auf zuckerhaltigen; bezüglich des Wachstums auf den letzteren Nährböden macht es keinen Unterschied, ob Milch- oder Traubenzucker genommen wird.

Die Nährgelatine wird nicht verflüssigt. Auf der gewöhnlichen, zuckerfreien Nährgelatine entstehen auf dünnbesäten Platten weiße, makroskopisch punktförmig aussehende, bei oberflächlichem Wachstum über die Gelatineoberfläche prominierende Kolonieen, deren Durchmesser 0,5 mm fast nie überschreitet, gewöhnlich sogar weit unter dieser Grenze bleibt (0,1—0,2 mm). Auf Trauben- oder Milchzuckergelatineplatten wurden die Kolonieen gewöhnlich etwas größer. Das makroskopische Aussehen ist dasselbe wie auf zuckerfreier Gelatine.

Auf der Agaroberfläche bilden sich — und zwar auf zuckerhaltigen Nährböden etwas kräftiger als auf zuckerfreien — zarte, durchsichtige Beläge, welche wie aus feinsten Tautröpfchen bestehend erscheinen.

Gewöhnliche zuckerfreie Nährbouillon wird nur ganz mäßig durch die Entwickelung der eingesäeten Bakterien getrübt; die chemische Reaktion wird nicht verändert. In Traubenzucker oder in zuckerhaltiger Bouillon ist das Wachstum dagegen ein sehr rapides; es findet hier intensive Trübung der Kulturflüssigkeit unter starker Säuerung statt.

Bei der Kultur in Gärungskölbchen mit Traubenzucker- oder mit Milchzuckerbouillon findet keine Gasentwickelung statt.

In eiweißfreier (zuckerhaltiger) Nährlösung scheint sich die Bakterienart nicht entwickeln zu können.

Auf Kartoffeln scheint nur ein spärliches Wachstum zu erfolgen.

Eine drei Minuten dauernde Erhitzung auf 60° C scheint etwa diejenige Beeinflussung durch Hitze zu sein, bei der unsere Bakterien in Bouillonkulturen ernstlich geschädigt zu werden beginnen.

Die bei der Kultur in Milch produzierte Säure ist in allen Fällen reine Rechtsmilchsäure.

Für die auffallende Thatsache, daß sich in spontan geronnener Milch gewöhnlich inaktive Milchsäure oder eine Michung von inaktiver und Rechtsmilchsäure, und nur in seltenen Fällen reine Rechtsmilchsäure findet, während der von den Verff. isolierte Mikroorganismus stets reine Rechtsmilchsäure bildet, giebt es vorläufig keine Erklärung.

Es ist nach Ansicht der Verff. sehr wahrscheinlich, daß der charakterisierte Organismus mit dem Lister'schen Bacterium lactis und dem Hueppe'schen Bacillus acidi lactici identisch ist.

Der Organismus läßt sich mit großer Leichtigkeit aus frischer spontan geronnener Milch mit Hilfe des von den Verff. angewandten von Beyerinck zuerst angegebenen Verfahrens (Herstellung von Säuerungskreisen auf Zuckergelatineplatten, die mit Calciumkarbonat versetzt sind) rein kultivieren. E. Roth (Halle a. S.).

Auerbach, Siegbert, Experimentelle Beiträge zur „natürlichen Reinzucht". [Aus der Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin.] (Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. XII. 1895. No. 49. p. 1177.)

Munsche (Wochenschr. f. Brauerei. 1895. p. 598) studierte das Verhältnis von wilder Hefe gegenüber der Kulturhefe. Verf. bearbeitete die Frage: Wie verhält sich eine Kahmhefe der normalen Hefe gegenüber? Als Versuchsmaterial diente untergärige Brauereihefe (Frohberghefe) und eine Dextrose vergärender Kahmhefe (No. 170 der Berliner Sammlung). Die Gärungen wurden in sterilen Literflaschen mit je 300 ccm gehopfter Würze durchgeführt. Die Hefen wurden erst im kleinen, dann im großen Pasteurkolben gezüchtet, filtriert und mit sterilem Filtrierpapier gepreßt. Zur Feststellung des Zellenverhältnisses wurde die Lindner'sche Tropfenkulturmethode benutzt; die Verdünnung wurde mit einem Gemisch von Würze und Würzegelatine hergestellt.

Bei dem ersten Versuche war das Verhältnis von Frohberghefe zu Kahm wie 29 zu 71. Gärtemperatur 10° R. Nach sechsmaligem Durchführen des Bodensatzes ließ sich unter mehr als 400 gezählten Kolonieen kein Kahm mehr nachweisen. Die von der ersten Gärung herrührenden Kräusen enthielten nach 7-maligem Führen nur noch Kahmhefe. Bei geringen Aussaatmengen und mittlerer Gärtemperatur nahm man eine starke Vermehrung der normalen Hefe wahr, bei kalten Temperaturen kam dagegen die Kahmhefe ins Uebergewicht. Bei größeren Aussaatmengen bewirken mittlere Temperaturen ein starkes Vorgehen der Frohberghefe vor der Kahmhefe; kalte Temperaturen dagegen zeigen einen Gleichgewichtszustand. Die Lüftung war von keinem Einfluß auf die Vermehrung der Kahmhefe; diese

wurde vielmehr bei warmen Temperaturen auf 1,9% zurückgedrängt. Zugesetzte Nährsalze zur Würze erwiesen sich bei Temperaturen von 22—23° R. als absolut bedeutungslos; bei Temperaturen von 2—3° bewirkten die Nährsalze ein schwaches Aufsteigen der normalen Hefe.

Zur Ermittelung des Verhaltens des Hefegemisches gegen Milchsäure wurden der Würze 0,6, bezw. 1,7% Milchsäure hinzugefügt. Trotz der bedeutend geringeren Beeinflussung durch hohen Säuregehalt unterliegt die Brauerei-Kahmhefe im Anfang der Gärung der gegen Säure viel empfindlicheren normalen Hefe, schlägt sie aber fast völlig nach 10 Tagen. In unmittelbarer Konkurrenz bei mittleren und hohen Temperaturen, selbst unter den günstigsten Lebens- und Schutzbedingungen ist die Kahmhefe der normalen Hefe nicht gewachsen; sie bevorzugt kalte Temperaturen; sie ist den „Kalthefen" (Delbrück) zuzurechnen. Ganz anders verhielt sich eine Brennerei-Kahmhefe (No. 267 der Berliner Sammlung) gegen reine Brennereihefe (Rasse II des Vereins der Spiritusfabrikanten in Deutschland). Bei hohen Säuremengen wurde eine fast vollständige Unterdrückung von Rasse II beobachtet. Die Brennerei-Kahmhefe ist im Gegensatz zu der Brauerei-Kahmhefe jedenfalls eine „Warmhefe" (Delbrück). Bei geringeren Säuremengen tritt ein Vorgehen von Rasse II ein. Will man eine Brennereihefe von Kahm befreien, muß man mit geringen Säuremengen arbeiten und möglichst viel Alkohol erzeugen.

Windisch (Berlin).

Sorel, E., Étude sur l'Aspergillus oryzae. (Comptes rendus des séances de l'académie des sciences de Paris. Tome CXXI. 1895. No. 25. p. 948.)

Im Anfang seiner Abhandlung erwähnt der Verf. die Behauptung von Juhler und Jörgensen, daß Aspergillus oryzae bei Züchtung auf Reis in einen Saccharomyceten umgebildet werde, und bemerkt ferner, daß der Richtigkeit dieser Behauptung widersprochen worden ist, ohne daß die betreffenden Arbeiten citiert werden, obgleich gerade in dieser Richtung von mehreren Seiten Untersuchungen veröffentlicht worden sind, welche zeigen, daß die oben erwähnten Herren sich geirrt haben. Die Absicht der Abhandlung ist, die Richtigkeit dieser Umbildung von Asp. oryzae zu beweisen, doch hat Verf., obwohl er die Sache auf eine ganz andere Weise als Juhler und Jörgensen auffaßt, thatsächlich nicht mehr Glück gehabt.

Für die Versuche wurde ein Aufguß von Malz auf 15° Balling benutzt, und diesem wurden verschiedene Dosen von Antisepticis zugesetzt. Die Versuche wurden bei 25—27° C. angestellt.

In der ersten Versuchsreihe wurden Konidien von Asp. oryzae in Würze ausgesäet, welche 0,003 Proz. wasserfreie Flußsäure enthielt, in einem Kolben, dessen Luftableitungsrohr in Wasser eingetaucht war, so daß die Flüssigkeit einem Drucke unterworfen wurde. Ein weißes Mycelium, welches die Oberfläche der Flüssigkeit bedeckte, entwickelte sich und Sauerstoff wurde absorbiert. Dann kehrte der ursprüngliche Druck zurück und die Haut des Mycels wurde feucht. Nach 3—4 Tagen beobachtete der Verf. sproßbildende, eiförmige

Zellen, gleichzeitig bildeten die Myceliumfäden Querwände, und es trat eine regelmäßige Gärung ein.

Wurde der Zusatz von Flußsäure verdoppelt, so trat das Phänomen später ein. Die von den Myceliumfäden gebildete Haut mit Querwänden war unregelmäßiger und die Entwickelung der Kohlensäure begann erst nach 8 Tagen, während die Hefezellen erst nach 10 Tagen erschienen.

Wurde die Flußsäuremenge um das Fünffache vergrößert, so wurde eine beginnende Keimung mit Absorption von Sauerstoff beobachtet, worauf das weitere Wachstum aufhörte, und sich keine Hefezellen bildeten.

Die Entwickelung des Mycels und die Bildung von Querwänden in ersterem gingen dem Auftreten der Hefezellen voraus.

In einer anderen Versuchsreihe wurde etwas Mycel in Würze mit 0,003 Proz. Flußsäure entwickelt, mit Wasser, welches dieselbe Menge von Flußsäure enthielt, abgespült und hierauf das Mycelium in Würze mit 0,006 Proz. Flußsäure ausgesäet. Am folgenden Tage fing eine Gärung an, und wieder wurde das Mycel mit mit Flußsäure angesäuertem Wasser abgespült. Danach wurde es in Würze mit 0,009 Proz. Flußsäure übertragen, in welcher sich nach Verlauf von zwei Tagen eine kräftige Gärung zeigte. Das Mycel war beinahe verschwunden, und auf dem Boden des Kolben wurde eine reichliche Menge von eiförmigen und elliptischen Hefezellen gefunden. Bei Wiederholung der letztgenannten Züchtung verschwand das Mycel ganz.

In der dritten Reihe wurden Konidien in drei Kolben A, B und C, in welchen ein reiner Luftstrom über die Oberfläche der Würze strich, ausgesäet. Der Würze war in A 0,003 Proz. Flußsäure, in B 5 Proz. Alkohol, aber keine Säure, und in C 0,003 Proz. Flußsäure und 5 Proz. Alkohol zugesetzt.

In A wurde die Oberfläche mit einer weißen, gefalteten Schicht vom Mycelium bald bedeckt. Nach Verlauf eines Monats wurde kein Bodensatz gesehen, aber unter dem Mycel wurden einige weiße Zellen, welche Hefezellen „ähnlich“ waren, gefunden. 1,48 Proz. Alkohol war gebildet worden.

In dem Kolben B, wo die Entwickelung sehr langsam vor sich ging, wurden sowohl Mycel als auch Hefezellen beobachtet. 5,62 Proz. Alkohol war nach Verlauf eines Monats produziert worden.

In C wurde beinahe kein Mycel gebildet, aber nach 8 Tagen war die Oberfläche mit einer leichten weißen Haut bedeckt, aus ovalen, sproßbildenden Zellen bestehend, und viele Hefezellen wurden auch auf dem Boden gefunden. Nach Verlauf eines Monats war 1,45 Proz. Alkohol gebildet.

Die Bedingungen kann man, bemerkt Verf., derartig einrichten, daß man ein Mycel erhält, welches sich nur als solches entwickelt, oder ein Mycel, welches nach und nach Querwände bildet, und sich in sproßbildende, ovale Zellen teilt, oder man bekommt schließlich vorzugsweise ovale Hefezellen und nur wenig Mycel. Er behauptet aber, entgegen J u h l e r, daß die Hefezellen sich vom Mycel und nicht von den Konidien entwickelten.

Wurde etwas der so hergestellten Hefe in gewöhnlicher Würze ausgesäet, so trat eine kräftige Gärung ein; es zeigte sich aber kein Mycel. Wurde dagegen etwas von dieser Hefe, nachdem sie mehrmals in Würze mit 0,01 Proz. Flußsäure gezüchtet war, auf dampfgekochtem Reis bei 26° C. ausgesäet, so erschien nach einigen Tagen eine grüne Schimmelentwickelung mit Konidien von Asp. oryzae!

Zu Obenstehendem muß Ref. bemerken, daß die von ihm in Verbindung mit seinem Kollegen, Herrn Klöcker, in Carlsberg Laboratorium angestellten Versuche zeigen, daß Asp. oryzae in einen Saccharomyceten ebensowenig unter den von Sorel angegebenen Bedingungen, als unter den von Takamine und Juhler mitgeteilten, umgebildet wurde. Die Einzelheiten betreffs dieser Nachprüfung werden in kurzer Zeit in dieser Zeitschrift erscheinen.

Schiönning (Kopenhagen).

Prinsen-Geerligs, H. C., Eine technisch angewandte Zuckerbildung aus Reis durch Pilze. (Chemiker-Zeitung. Jahrg. XIX. No. 75 u. 80.)

In China dienen verschiedene Pilze, welche diastatische Enzyme abscheiden, dazu, um Stärke zu verzuckern. In den verschiedenen Teilen Ostasiens scheinen verschiedene Pilze zu diesem Zwecke benutzt zu werden. So soll in Cochinchina ein Amylomyces der vornehmste Träger des diastatischen Enzymes sein, während in Japan ein Aspergillus zur Zuckerbereitung verwendet wird. Auf Java bedienen sich die Chinesen, wie auch die Eingeborenen eines eigentümlichen Stoffes zur Verzuckerung der Stärke, worin verschiedene Pilze und Hefearten sowie Bakterien vorkommen, von denen jedoch der hauptsächlichste Zuckerbildner ein Pilz von der Gattung Chlamydomucor ist. Dieses Material, von den Chinesen „Peh-Khak" und von den Javanen „Raggi" genannt, wird nach verschiedenen, zum Teil komplizierten Vorschriften hergestellt. Sämtliche Vorschriften aber stimmen darin überein, daß Reismehl mit Zuckerrohr oder zuckerhaltigem Wasser zu Kugeln geknetet wird, teils mit einem Zusatze von Gewürzen, teils ohne einen solchen. Diese Kugeln werden alsdann während einiger Tage zwischen Reisstroh gelegt. Dr. Went fand in dem so bereiteten „Raggi" zwei Hefearten, die er Monilia javanica und Saccharomyces Vordermanni nannte, und zwei diastatische Pilze, denen er die Namen Chlamydomucor oryzae und Rhizopus oryzae gab. Alle diese Organismen kamen auch auf frischem Reisstroh vor und konnten aus demselben rein gezüchtet werden. Da also im „Raggi" zugleich verzuckernde und Gärung erregende Organismen vorhanden sind, so kann dieser Stoff auch zur Bereitung von Reiswein benutzt werden. Der bei der Einwirkung von „Raggi" auf Reis gebildete Zucker ist Dextrose, und zwar geht die Verzuckerung des Amylodextrins durch den Chlamydomucor viel weiter als durch die Diastase, doch steht er dieser insofern nach, als der Pilz die Granulose nicht angreift und nur die leichter löslichen Kohlehydrate zu hydrolysieren vermag, während Diastase die Stärke völlig hydrolysiert. Ein anderer Nachteil ist der, daß bei der Hydrolyse durch den Pilz infolge von

Veratmung ein großer Verlust an Substanz (ca. 33 Proz.) stattfindet, während bei der Wirkung der Diastase die Stärke quantitativ in Dextrin und Maltose zerlegt wird. Hollborn (Rostock).

Hallier, Ernst, Die Pestkrankheiten (Infektionskrankheiten) der Kulturgewächse. (Nach streng bakteriologischer Methode untersucht und in völliger Uebereinstimmung mit Robert Koch's Entdeckungen.) 8°. XV, 114 p. Stuttgart (Erwin Nägele) 1895.

„Vor 57 Jahren gelang es Dir (Matthias Jakob Schleiden), die ganze Morphologie und Physiologie der Organismen auf die Zelle und ihre Funktionen zu gründen. Du hattest also das Formelement der Organismen entdeckt."

„In den Plastiden der niederen Pflanzen das Element des Elements aufzufinden, war mir (dem Neffen) vorbehalten."

„Dein Geist vernehme meinen Dank für die Methode, die Du mich gelehrt hast zur Erweiterung dieses Zieles nach 30jährigem Ringen."

Bereits 1868 hatte Hallier über den Ursprung der Infektionskrankheiten seine Ansicht geäußert und die Parasiten derselben als die Produkte des Plasma verschiedener Pilze hingestellt. Um nun den Ursprung der Infektionskrankheiten aufzusuchen, hat man bei jeder derselben zu untersuchen, welcher bestimmte Pilz aus seinem Plasma die Kontagionszellen (Bacterium micrococcus u. s. w.) erzeugt, und auf welche Weise das geschieht. Dieses war Verf.'s Fragestellung bereits Ende der sechziger Jahre.

Die in den vorliegenden Blättern niedergelegten Untersuchungen richten sich fast ausschließlich auf zwei Pilzgruppen, auf die Schimmeltaue (Peronosporeae) und die Hefepilze, von denen aber nur die als Fermentaria gracillima bezeichnete Bierhefe näher untersucht ist.

In einer ersten Abteilung beschäftigt sich Hallier zunächst mit der wissenschaftlichen Sprache, hält deutsche Namen für wünschenswert, und führt die Bezeichnung Schimmeltaue für die Peronosporeen ein, da Mehltaue für die Erysibeen bereits in Anspruch genommen ist. Des weiteren geht er auf die falsche Lehre von der Vielgestaltigkeit (Pleomorphie) der Pilze ein, und hält es für unerläßlich, zu betonen, daß es bei allen bis jetzt genauer untersuchten Pilzen nur eine einzige wirkliche Frucht giebt. Den Begriff des Schmarotzertums (Parasitismus) erläutert ein drittes Kapitel, bespricht die Tragweite dieses Ausdruckes und die verschiedenen Grade des Schmarotzens; die Erreger der Infektionskrankheiten sind nach des Verf.'s Ausführungen überhaupt keine selbständigen Organismen von irgendwelchem systematischen Wert, sodaß sich die große Verwirrung in der Namengebung der Bakterien, welche sowohl in der Medizin als auch in der Botanik herrscht, später von selbst auflösen wird. Als Bezeichnung von Formen kann man ja die gebräuchlichsten Namen vorläufig immerhin beibehalten, was schon der Orientierung wegen notwendig ist.

Den Schluß der ersten Abteilung bildet dann die Schilderung der Methode der Untersuchung, der Apparate wie ihres Gebrauches und der angewandten Kulturlösungen.

Die größere Hälfte des Buches macht uns dann mit den neuen Untersuchungen des Verf.'s über die Lebensweise der Peronosporeen und über analoge Erscheinungen bei anderen Pilzen bekannt, welche zuvörderst Vorerörterungen über die verwandtschaftlichen und stammesgeschichtlichen Verhältnisse der Familie bringen. Darnach sind die nächsten Verwandten der Peronosporeen die Saprolegnieen; beide Familien entspringen von einem gemeinsamen Stammvater, welchem letztere näher als die ersteren stehen; die Peronosporeen bilden einen jüngeren Ast des Stammbaumes. Als Gattungen will Hallier angenommen wissen: Cystopus Lev. Weißblatter; Zoospora E. H. Schwärmertau; Phytophthora E. H. Pesttau; Plasmatospora E. H. Plasmatau; Peronospora E. H. Knospentau, wobei bei Phytophthora und Peronospora einfach erklärt wird: der Name wurde zuerst von B. aufgestellt, aber in einem Sinne, welcher den Thatsachen nicht entspricht, und der Name rührt von Corda her, der ihn aber in ganz anderer Begrenzung in Anwendung brachte.

Eine Uebersicht über die wichtigeren, bei uns vorkommenden Arten vereinigt folgende Spezies (stets E. H. [allier] als Autor, wenn nichts anderes bemerkt ist): Cystopus Capsellae, Compositarum, Portulacae B., Amaranthi-Zoospora Umbelliferarum, viticola, basidiophora — Phytophthora Solani, Sempervivi — Plasmatophora Anemones — Peronospora Lactucae, Cactorum Lebert und Cohn, Capsellae, Cepae, Corydalis B., Asperulae, Viciae B., Alsinearum Casp., Dianthi B., Chenopodii, Ficariae Tul., Trifoliorum B., Dipsaci Tul., Knautiae, Beccabungae, Papaveris, Valerianellae Fuckel, Spergulae, Anthemidarum, Chrysanthemi, Betae J. Kühn, Rosae.

Die mikroskopischen Untersuchungen setzen mit Cystopus Capsellae E. H. ein, um mit Zoospora Umbelliferarum und Solani fortzufahren. Sie folgern: Phytophthora ist kein Parasit im gewöhnlichen, strengen Sinne des Wortes; auf der Kartoffel lebt er zwar anfangs parasitisch, aber nur kurze Zeit, denn sehr bald wird er von Bakterien und anderen Konkurrenten besiegt. Ebensowenig ist die Phytophthora ein Saprophyt im gebräuchlichen Sinne; auf faulenden Materieen gedeiht sie überhaupt nicht. Ferner: Die Bakterien der Naßfäule sind ein Entwickelungsprodukt der freigewordenen Plastiden.

Ein besonderer Abschnitt behandelt die Phytophthora als Krankheitserreger und gipfelt in dem Satze: Vor allen Dingen habe ich bewiesen, daß die Bakterien, welche die absolute Ursache der Kartoffelpest sind, von den Plastiden der Phytophthora erzeugt werden, und daß diese, sind sie erst einmal ausgebildet, zur Erzeugung der Pest durchaus genügen, und es des Mycels und der Knospen der Phytophthora gar nicht mehr bedarf.

Das Verhältnis der Untersuchungen von Robert Koch in Berlin zu dem des Verf.'s wird allgemein interessieren, zumal Hallier dem

Schicksal von Robert Mayer und Hermann Itzigsohn zu verfallen fürchtet. Immerhin giebt er als Koch's erste große That von grundlegender Bedeutung seine Reinkultur der krankmachenden Bakterien zu, wodurch ihre Isolierung und die Möglichkeit, mit ihnen zu experimentieren, gegeben war, wenn er auch hinzufügt, er habe bereits während der sechziger Jahre für eine große Anzahl menschlicher Infektionskrankheiten die als Ursache zu betrachtenden Mikroorganismen aufgefunden und abgebildet. Dem zweiten ungeheueren Verdienste Koch's in der Anwendung des genialen Gedankens, daß die Mikroorganismen durch die Wirkung auf ihr Substrat, auf die Säfte des Wirts selbst ein Gegengift, ein Hilfsmittel zu ihrer eigenen Vernichtung schaffen, läßt er ebenfalls Gerechtigkeit widerfahren, aber der Grundgedanke war längst da, und nur die falschen Voraussetzungen, derenzufolge man in jeder neuaufgehenden Form eine neue Art sieht, hinderte seine Entwickelung.

Was nun die völlig berechtigte Forderung anlangt, aus den Plastiden und ihren Produkten die höheren Ursprungsformen wieder zu züchten, führt Verf. seine Arbeit über die Alkoholhefe ins Feld, schildert den Kampf der Phytophthora mit Fusisporium Solani, die Trockenfäule der Kartoffeln und verschiedene Schimmelbildungen als Nachfolger der Phytophthora als Spicaria Solani Harting u. s. w., die Kräuselkrankheit der Kartoffeln, die Tabakspest, die Plasmathophora Anemones, Peronospora Capsellae, P. Lactucae, Corydalis, Ficariae.

Es giebt außer den hier als Beispiele mitgeteilten Infektionskrankheiten bei den Gewächsen vorhandene, doch sind die oben angeführten bis jetzt die einzigen, die genauere Untersuchungen erfahren haben.

Ausführlich seien die Resultate z. B. für die Kräuselkrankheit der Kartoffeln mitgeteilt:

Die Kräuselkrankheit der Kartoffel zeigt zwei verschiedene Formen, deren erste direkt, die zweite indirekt durch das parasitische Mycelium eines Rußtaues, Pleospora polytricha Tul. erzeugt wird. Die Pleospora dringt mit ihrem Mycelium in Boden, wohin sie wahrscheinlich mit Stroh gelangt, in die Saatkartoffel ein. Die Pleospora befällt vorzugsweise zarte, zartschalige Sorten, weil sie in diese am leichtesten eindringen kann. Das eingedrungene Mycelium verbreitet sich langsam in der Mutterkartoffel, wo es die Triebe erreicht. In dieser breitet sich an ihrem Grunde der Parasit langsam im Querschnitte aus; dagegen steigt das Mycel sehr rasch aufwärts, am raschesten in den großen Tüpfelgefäßen, weil diese am wenigsten Widerstand leisten. Nach einiger Zeit hat das parasitische Mycelium den Trieb derart ausgezogen, daß derselbe abstirbt. Alle Erscheinungen dieses Absterbens, als nekrotische Flecke, Welken von den Extremitäten her, Chlorose, Degeneration des Amylums finden ihre Erklärung durch Entziehung der wässerigen Nahrung mit den anorganischen Nährstofflösungen, namentlich den Kalisalzen, von seiten des parasitischen Mycels. Die Krankheit pflanzt sich durch die Brutträger bis an den Anheftungspunkt der Brutkartoffel fort. Die ausgelegte Brutkartoffel erzeugt Triebe, welche an der zweiten Form der

Kräuselkrankheit leiden. Da hier das Mycelium den Trieb gar nicht erreicht, so treten die Erscheinungen des Welkens, der Chlorose u. s. w. nicht ein, sondern der glasige gekräuselte Trieb stirbt bald wieder ab. Die beiden Krankheitsformen befallen also zwei Generationen der Kartoffelpflanze; die erste autochthon auf dem Felde, die zweite anererbt von der kranken Mutter. Bei der ersten Form ist der Parasit direkt, bei der zweiten nur indirekt thätig. Nach der zweiten Generation erlischt die Krankheit, da diese zweite Generation keine Brut ansetzt. E. Roth (Halle a. S.).

Stoklasa, Julius, Chemische Untersuchungen auf dem Gebiete der Phytopathologie. (Zeitschrift für physiol. Chemie, herausgeg. von Hoppe-Seyler. Bd. XXI. 1895. H. 1. p. 79—86.)

Untersuchungen über die chemischen Vorgänge bei den pathologischen Erscheinungen im Pflanzenreiche sind bisher fast vollständig zu vermissen. Welch interessantes Arbeitsgebiet hier noch offen steht, lehren die Untersuchungen des Verf., die sich auf einige Krankheiten der Zuckerrüben beziehen. Im vorliegenden Aufsatz finden zunächst die durch Einwirkung der Rübennematoden (Heterodera Schachtii) im Organismus der befallenen Pflanzen sich abspielenden chemischen Vorgänge auf Grund vergleichender Untersuchungen gesunder und kranker Zuckerrüben eingehende Erörterung.

Es ist bereits bekannt, daß die Rübennematoden nicht nur einen geringeren Ertrag überhaupt, sondern auch eine verminderte Produktion an Saccharose in der Rübe bedingen. Hierfür bringen die Untersuchungen des Verf. zunächst eine neue Bestätigung; denn es betrug der Saccharosegehalt kranker und gesunder Pflanzen in der Trockensubstanz der Blätter 1,73 Proz. bezw. 4,07 Proz., in der Wurzel 53,67 Proz. bezw. 71,84 Proz.

Die Trockensubstanz der Blätter kranker Rüben zeigt ferner einen erheblich niedrigeren Gehalt an Hexose, an Stickstoff in Form von Eiweißstoffen, an Lecithin, Reinasche (10,07 gegen 22,14 Proz.) und unlöslicher Oxalsäure (0,89 gegen 3,92 Proz.). Dagegen findet sich in derselben ein Plus an Asparagin, Cellulose, und was besonders bemerkenswert ist, an löslicher Oxalsäure (6,03 gegen 2,04 Proz.). In der prozentischen Zusammensetzung der Asche der Blätter besteht kein erheblicher Unterschied, wohl aber treten die Differenzen bedeutend in dem auf Reinasche in der Trockensubstanz umgerechneten Quantum hervor. Der Kalkgehalt gesunder und kranker Blätter beträgt z. B. 5,07 bezw. 2,00 Proz. Diesem Mangel an Kalk muß es zugeschrieben werden, daß in den Blättern kranker Pflanzen Oxalsäure in so enormen Mengen in löslichem Zustande auftritt, und nicht in unlöslichen Zustand übergeführt wird. Der verderbliche Einfluß der löslichen Oxalate wird hauptsächlich im Zellkern und bei den Chlorophyllkörnern zur Geltung gelangen, und da die Bildung der Saccharose im Mesophyll erfolgt, so erklärt sich der geringe Saccharosegehalt kranker Rübenpflanzen. Wahrscheinlich wirken die löslichen Oxalate auch auf die Enzyme, welche die Verzuckerung von Stärke befördern, verderblich.

Man begreift nun auch den wohlthätigen Einfluß des Kalkes im Boden auf die Entwickelung einer von Nematoden heimgesuchten Rübe; denn derselbe vernichtet nicht nur die Nematoden, sondern er ist auch von wesentlichem Vorteil bei der Paralysierung der schädlichen Wirkung der löslichen Oxalsäure; und ebenso erklärt sich die Thatsache, daß Zuckerrüben in Böden, welche reich an Kalk neben anderen Nährsubstanzen sind, nie so stark von Nematoden zu leiden haben, wie jene in kalkarmen Böden.

Auch Wurzeln kranker Rüben zeigten in der Trockensubstanz einen auffallend geringen Gehalt an Reinasche. Besonders interessant war, daß Kaliumoxyd in den kranken Rüben durch Natriumoxyd sich vertreten fand. Die Wurzeln kranker Pflanzen besitzen demnach nicht die nötige Energie zur Aufnahme anorganischer Nährsubstanzen, insbesondere von Kaliumoxyd, welches im Boden hauptsächlich in Form von Silikaten vorhanden war, während das Natriumoxyd dem mehrmals als Dünger gegebenen leicht löslichen Chilisalpeter entstammte. Der Mangel an anorganischen Nährstoffen aber muß eine Störung in der Assimilation der grünen Mesophyllzellen bewirken, wie sie durch den verminderten Eiweißgehalt und die Ansammlung von Asparagin oder Glutamin sich dokumentiert.

Der Veröffentlichung der ferneren Untersuchungen des Verfassers, welche sich auf die Wirkung von Rhizoctonia violacea und Cercospora beticola beziehen, kann man nach den vorstehenden Ergebnissen nur mit großem Interesse entgegensehen.

L. Hiltner (Tharand).

Bailey, L. H. and **Lodeman, E. G.,** Forcing House Miscellanies. (Cornell University Agricultural Experiment Station. Bulletin 96. June 1895.)

Mehrere Kapitel: Remarks upon the heating of forcing houses, Lettuce, Celery under glass und Cress in winter sind aus der Feder von L. H. Bailey. In dem zweiten Absatze spricht der Verf. von der Fäulnis des Lattichs, welche durch den Pilz Botrytis vulgaris hervorgerufen wird. Auch Leaf Burn richtet großen Verlust in dem Lattichbau an. Die Enden der Blätter sterben ab, wenn die Pflanzen beinahe gebrauchsfähig sind. Die Krankheit wird durch meteorologische Bedingungen und ungünstige Bodenverhältnisse bedingt. Im Treibhause gehören zu dem Lattichbau eine niedrige Temperatur, feste Bänke oder keine Bodenhitze (Bottom Heat), ein von Treibsand und Thon freier Boden, welcher mit Sand gut gefüllt wird, und sorgfältiges Begießen. Unter diesen Vorbedingungen kann man bei gutem Lüften der Fäulnis und anderen Krankheiten vorbeugen. Auch ein Insekt (Aphis) ist dem Lattich oft schädlich, vorzüglich in allzu warmen Treibhäusern. Das Räuchern mit Tabaksstengeln zweimal in der Woche wird empfohlen.

In dem Kapitel Forcing Egg Plants spricht E. G. Lodeman über die Schädigungen durch die grüne Fliege (Aphis), des Mehlinsektes, der roten Spinne und der Milben. Durch Räucherung werden die ersteren getötet, während Bewässerung den letzteren vorbeugt. Atkinson (Ithaca, N. Y., U. S. A.)

Atkinson, Geo. F., Some observations on the development of Colletotrichum Lindemuthianum in artificial cultures. (Botanical Gazette. Vol. XX. 1895. pp. 305—311. 1. Plate.)

Bei den Versuchen, den Pilz in Reinkulturen von trockenen Bohnenhülsen zu erlangen, wollten die Sporen nicht keimen, obgleich sie nur zwei oder drei Tage lang getrocknet worden waren. Endlich wurden Reinkulturen im nächsten Winter erlangt, auf folgende Weise: Bohnensaaten, welche von kranken Mutterstammpflanzen infiziert worden waren, wurden in ein feuchtes Gefäße gelegt, wo sich nach einigen Tagen der Pilz in einigen Flecken der Bohnen gut entwickelte. Von diesen frischen Sporen erhält man mit der gewöhnlichen Plattenmethode die erwünschten Kulturen. Die Pilze wuchsen auf Agar-Agar, sterilisierten Wickenstengeln und im Wasser.

Auf den Wickenstengeln erschien der Pilz nach zwei Tagen in Form weißer Kolonieen mit umstrahlenden Fäden. Nach mehreren Tagen wird das Centrum der Kolonie schwarz, mit einem Rande weißer umstrahlender Fäden. Zahlreiche Sporen entwickeln sich, und in wenigen Tagen bedeckt sich die ganze Oberfläche der Wickenstengel mit einem dicken, schwarzen Stroma, welches mit hervorragenden Knöllchen versehen ist.

Auf Agar-Agar und in Plattenkulturen entwickelt sich der Pilz in Form von unregelmäßigen, mit schwarzem Mittelpunkt und weiß umstrahlenden Rändern versehenen, 8—10 mm breiten Kolonieen. Bei der Keimung entwickeln die Sporen einige Keimfäden, welche sich verzweigen, und zwar oft dichotom, und kompakte Kolonieen bilden. Oft vereinigen sich die umstrahlenden Fäden zu dicken schwarzen Massen, vornehmlich nahe dem Mittelpunkt. Kulturen auf Agar-Agar in Petrigefäßen zeigen merkwürdige Erfolge in der Keimung der Sporen. Die Sporen keimen langsam, gewöhnlich in 18—36 Stunden. Oft keimen mehrere Sporen an dem ersten Tage, weniger an dem zweiten Tage, wenige an dem dritten Tage u. s. w. Die ersten gekeimten Sporen schwellen nur ein wenig an, ehe die Keimung vor sich geht. Die später keimenden Sporen schwellen aber mehr und mehr an, oft zum Zwei- oder Dreifachen ihres ursprünglichen Durchmessers, und ziehen sich streng bei dem Septum zusammen, welches während der Keimung entwickelt wird. Solche Sporen, hauptsächlich diejenigen, welche nach mehreren Tagen sprossen, entwickeln bald und zahlreich schwarze Zellen auf dem Mycel. Die Sporen, welche früh keimen, schwellen später auch an.

Atkinson (Cornell University, Ithaca, N. Y.; U.S.A.).

Dietel, P., Ochropsora, eine neue Uredineengattung. (Berichte der Deutschen Bot. Gesellschaft. XIII. Jahrg. p. 401—402.)

Es handelt sich hier um einen Pilz, der bisher als Melampsora Sorbi (Oud.) bezeichnet worden ist, der aber von dieser Gattung auszuschließen ist, da seine Teleutosporen nicht die typische Keimungsweise durch ein aus der Spore austretendes Promycel aufweisen, sondern vielmehr sich in 4 übereinanderstehende Zellen teilen, deren jede ein kurzes Sterigma zur Bildung einer spindelförmigen Sporidie

nach außen sendet. Hierdurch schließt dieser Pilz sich eng an Coleosporium an, ist aber wegen der abweichenden Gestalt der Sporidien und der wesentlich anderen Art der Uredobildung auch von dieser Gattung auszuschließen. Dietel (Reichenbach i. V.).

Alwood, W. B., Ripe Rot, or Bitter Rot, of Apples. (Virginia Agricultural Experiment Station. Bulletin 40, May, 1895.)

Kurze Beschreibung der Untersuchungen von Gloeosporium fructigenum Berk., wobei sich die Synonymie folgendermaßen stellt: G. fructigenum Berk., 1856; G. laeticolor Berk., 1859; G. versicolor Berk. & Curt., 1874; G. versicolor Thüm., 1879; G. laeticolor Sacc., 1884; G. versicolor E. & E., 1885. Verf. verwirft den Namen Ascochyta rufo-maculans Berk., als ein Synonym, weil ihre Identität mit G. fructigenum nicht hinreichend begründet ist, und giebt dann eine Beschreibung der Verbreitung, äußeren Erscheinungen und der Merkmale des Pilzes. Die Untersuchungen wurden an Reinkulturen angestellt und schließen mit Bemerkungen über die Behandlung der Krankheit. Zwei Tafeln illustrieren die Artikel.

Atkinson (Cornell University Ithaca, N. Y.; U.S.A.)

Slingerland, M. V., A Plum Scale in Western New York. (Cornell University Agricultural Experiment Station. Bulletin 83. 1894. December.)

Dieses Insekt ist wahrscheinlich eine unbekannte Species von Lecanium und hat während der letzteren Jahre mehrere der größten Baumpflanzungen im Staate New-York arg verwüstet. Der Parasit entleert einen „Honey Dew", auf welchem einige Pilze, welche den bekannten schwarzen, klebrigen Ueberzug auf den Blättern und der Frucht hervorbringen, wachsen. Die Stomata der Blätter werden dabei bedeckt, was natürlich störend auf die physiologischen Vorgänge einwirkt, auch wird die Frucht wertlos. Das Insekt greift in erster Linie die Pflaumenbäume an, doch ist in der Nachbarschaft der befallenen Pflaumengärten ein Insekt auf der Quitte gefunden worden, welches mit dem obigen identisch ist und auch Aepfel, Birnen, Kirschen, Ulmen, Ahorn, die Pseudacacie und Cissus angreifen kann. Das junge Insekt wandert im Herbste von den Blättern zu den Zweigen, wo es überwintert, um im folgenden Frühling zeitig sich zu männlichen und weiblichen Insekten zu entwickeln. Die Eier legen sie um die Mitte des Mai ab, aus welchen 1 Monat später sich das ganze Tier entwickelt. Zwei Feinde dieses Lecanium wurden beobachtet, nämlich ein Chalcid-Schmarotzer und ein Lady Bird Kafer, Chilocorus bivulnerus. Die Insekten können mit der Kerosen-Emulsion getötet werden, und es ist nur eine sehr verdünnte Lösung im Juli, wenn die Jungen aus den Eiern auskriechen oder noch besser während der Ueberwinterung zur Vernichtung nötig, wenn sie noch jung und zart, frei an den Zweigen oder in den Spalten des Korkes sind. Im Winter kann natürlich eine stärkere Lösung gebraucht werden als im Sommer. Der Artikel ist mit mehreren Bildern illustriert,

darunter eines von dem San Jose Scale (Aspidiotus perniciosus) zur Vergleichung. Atkinson (Ithaca, N. Y., U. S. A.).

Bailey, L. H., Winter Muskmelons. (Cornell University Agricultural Experiment Station. Bulletin 95. June, 1895.)

Nach einer von mehreren Photogravüren begleiteten Erörterung der für Treibhauszucht geeigneten Formen von Bisam-Melonen, giebt der Verf. einige Bemerkungen über die denselben schädlichen Insekten und Pilze. Die aufgezählten drei Insektenfeinde sind schwarze Aphis; Milben, Tetranychus bimaculatus und das Mehl-Insekt. Er empfiehlt Vorbeugungsmittel als die beste Behandlung gegen diese Feinde. Gegen die Milben sollte das Treibhaus feucht gehalten werden. Ein scharfer auf die infizierten Pflanzen gerichteter Strom von Wasser wird die Milben und Mehl-Insekten abschlagen, während Beräucherung gegen die Aphiden empfohlen wird. Gegen die zwei schädlichen Pilze, Mildew (Erisiphe Cichoracearum) auf den Blättern wird Schwefelblume empfohlen. Gegen Damping off oder Canker wird als Vorbeugungsmittel trockener Boden und um die Wurzeln mit dem Boden gemischter Schwefel empfohlen.

Atkinson (Cornell University, Ithaca, N. Y.; U.S.A.).

Frank, B., Ueber die biologischen Verhältnisse des die Herz- und Trockenfäule der Rüben erzeugenden Pilzes. (Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft. XIII. 1895. p. 192—199.)

Der Zuckerrübenbau in Deutschland ist in den letzten Jahren durch das Auftreten einer Krankheit, der Herz- oder Trockenfäule, bedeutend geschädigt worden. Schon an den hypocotylen Stengelgliedern der Keimpflanze kann die Krankheit als sogenannter Wurzelbrand auftreten, an älteren Pflanzen werden die unteren Teile der Blattstiele und die jungen Herzblätter ergriffen, welche dann unter Schwarzwerden verderben (Herzfäule), an den in Samen schießenden Pflanzen entstehen fleckenartige Schwärzungen des Samenstengels und der Samenknäuel und an den Rüben selbst bilden sich Faulstellen (Trockenfäule). Als konstanter Begleiter dieser Krankheit konnte ein Pilz, Phoma Betae Frank, aufgefunden werden, welcher als die Ursache derselben anzusehen ist, da durch Transplantation eines kranken Rübenstückchens in eine gesunde Rübe und durch Sporenaussaat auf welke Blattstiele der Rübenpflanze die Krankheit übertragen werden kann. Identisch mit Phoma Betae dürfte der von Prillieux und Delacroix in Frankreich und Belgien bei der Herzfäule der Rüben beobachtete Pilz, welcher Phyllosticta tabifica benannt worden ist, sein.

Die Krankheit tritt besonders in trockenen Jahren und Monaten und bei trockenen Bodenverhältnissen (Lage auf hohen Kuppen, starke Entwässerung, Düngung mit Kalk) auf. Während sonst pilzparasitäre Krankheiten durch Feuchtigkeit begünstigt werden, erklärt sich dieses eigentümliche Verhalten des Parasiten daraus, daß derselbe nur welkwerdende, altersschwache Blattstiele zu infizieren ver-

mag, während in frische, unverletzte Stiele die Sporenkeime nicht eindringen. Die Infektion der Herzblätter, die ja nie im welken Zustande sich befinden, erfolgt daher auch nur an Wundstellen (Zerreißung beim Wachstum, Verletzung durch Insekten). An den Blattstielen bildet die Spitze des Keimschlauchs ein kreisrundes Appressorium, welches sich der Epidermiszellhaut auflegt und dieselbe in einem äußerst feinen, tüpfelähnlichen Porus durchbohrt; innerhalb der Zelle schwillt der Keimschlauch zu einer blasenförmigen Aussackung an, welche als Mycelfaden in und zwischen den Zellen weiterwächst.

Das Mycel entwickelt scheinbar giftartig wirkende Fermente, welche sich rascher verbreiten als das Mycel selbst und die Gewebe zum Absterben bringen. Ebenso eilt auch eine andere Wirkung des Mycels diesem voraus, nämlich eine teilweise Umsetzung des Rübenzuckers in reduzierenden Zucker, Glykose.

Phoma Betae entwickelt sich bei saprophytischer Ernährung, z. B. auf gekochten Rübenblattstielen, anderen gekochten Pflanzenteilen, Rübensaft oder Pflaumendecoct, mit größter Leichtigkeit bis zur Bildung der charakteristischen Pykniden. Der Pilz ist also Saprophyt und fakultativer Parasit. Als Saprophyt findet er sich auf den abgestorbenen Blattstielen und faulenden Pflanzenteilen. Er ist aber auch ein in den Rübenböden sehr verbreiteter Pilz. Da seine Sporen weder im Wasser noch im Ackerboden keimen, sondern erst dann, wenn sie mit Rübensaft oder einer Rübenpflanze in Berührung kommen, und da dieselben ferner den Winter im Erdboden im ruhenden Zustande überdauern können, so kann von faulenden Pflanzenteilen und vom Boden aus die Infektion der neuen Pflanzen im Frühjahre stattfinden. Durch dieses Verhalten erklärt sich auch die Thatsache, daß Phoma Betae an den Rüben wieder auftritt, wenn erst nach mehreren Jahren diese Kulturpflanze auf einem einmal mit den Sporen dieses Pilzes verseuchten Acker gebaut wird.

Durch keines der versuchten Bekämpfungsmittel (Rajolen, verschiedene Bestellungszeit, Kalidüngung, Bespritzung der Pflanzen mit Kupfervitriol-Kalkbrühe und Desinfektion des Ackerbodens mit lezterer oder Petroleum) konnte der Pilz getötet oder fern gehalten werden. Es sind daher bislang nur folgende Mittel als erfolgreich zu bezeichnen: Auswahl solcher Gegenden, welche am seltensten in den Monaten Juli und August an Dürre leiden, Vermehrung solcher Felder zum Rübenbau, welche durch ihre Lage am wenigsten zur Austrocknung des Bodens neigen, Vermeidung zu starker Entwässerung und möglichst frühzeitige Entfernung des kranken Pflanzenmaterials vom Acker.

Eine Verschleppung des Pilzes durch Verfütterung der Rüben ist nicht zu befürchten, da die Sporen durch den Magensaft getötet werden.

Brick (Hamburg).

Sadebeck, Beobachtungen und Bemerkungen über die durch Hemileia vastatrix verursachte Blattfleckenkrankheit der Kaffeebäume. (Forstlich-naturwissenschaftliche Zeitschrift. Jahrg. III. Heft 8. München 1895.)

Der zuerst auf Ceylon (1869) beobachtete Pilz (Hemileia vastatrix) des Kaffeebaumes, welcher dort (1870) sämtliche Plantagen vernichtete, ist wahrscheinlich in Centralafrika einheimisch. Er wurde seit seiner Entdeckung überall nachgewiesen, wo Kaffee gebaut wird: im ganzen malayischen und polynesischen Gebiet, auf den Mascarenen, in Natal, im tropischen Amerika und auf den Kaffeeplantagen Deutsch-Ostafrikas. Sadebeck warnt nach seinen Erfahrungen energisch vor dem Bezug junger Kaffeepfänzchen für den Plantagenbetrieb, da die Infektion in den ersten Stadien äußerlich nicht zu erkennen ist, und empfiehlt für diesen Zweck Saatgut, welches durch Bordeauxbrühe desinfiziert wurde.

Zur Kultur des Pilzes behufs weiterer Untersuchungen erwiesen sich sehr verdünnte Nährlösungen aus Abkochungen von Kaffeeblättern vermischt mit Pferdemistdekokt, als empfehlenswert.

Tabakwasser, noch besser aber Bordeauxbrühe tötet die Uredosporen des Pilzes in kurzer Zeit; die Einwirkung dieser Stoffe auf Teleutosporen konnte leider nicht geprüft werden.

Die Infektion erfolgt leicht von Pflanze zu Pflanze, resp. von Blatt zu Blatt. Sporen, welche von getrockneten Blättern entnommen wurden, hatten zum größten Teil ihre Keimkraft verloren.

Zur Vernichtung dieses schädlichen Pilzes empfiehlt Sadebeck nach den heutigen Erfahrungen:

1) Abschneiden der infizierten Blätter und Unschädlichmachung der letzteren durch verdünnte Säuren oder Bordeauxbrühe;
2) Bespritzen der Plantagen mit Bordeauxbrühe, wodurch gleichzeitig die auf die Erde gefallenen Sporen getötet werden.

Bei Anwendung dieser Mittel ist eine Katastrophe, wie die auf Ceylon 1870, nicht zu befürchten. Nestler (Prag).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Gruber, Max, Die Methoden des Nachweises von Mutterkorn in Mehl und Brot. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXIV. 1895. Heft 3/4. p. 228—235.)

Vielfältig sind die bisher angegebenen Methoden, um Mutterkorn nachzuweisen. Am bequemsten ist die chemisch von A. Vogel bisher angegebene. 2 gr Mehl mit 10 ccm saurem Alkohol (100 ccm 70-proz. Alkohol mit 15 ccm konzentrierter Salzsäure) übergießen, stehen lassen; bei Anwesenheit von Mutterkorn tritt bereits nach kurzem Stehen bei gewöhnlicher Temperatur und Beschleunigung bei Erwärmung auf 50° C. eine blut- oder fleischrote Färbung auf. Bereits bei Anwesenheit von 0,2-proz. Mutterkorn im Mehle ist diese Rotfärbung erkennbar; selbst bei 0,1 Proz. ließen sich Spuren des rötlichen Verfärbens nachweisen.

Da Verfälschungen und Vermengungen mit Wicken ebenfalls Rotfärbung ergeben, wenn auch mit etwas bläulichem Scheine, so muß man die spektroskopische Untersuchung zu Hilfe nehmen. Lösung des Farbstoffes mit Mutterkorn giebt zwei charakteristische Absorptionsstreifen in Braun und einen beträchtlich schwächeren in Blau. Wickenlösung ergiebt nichts dergleichen.

Weit bequemer ist aber eine vom Verf. angegebene mikroskopische Prüfung. Einige Milligramm des Mehles oder des Brotes werden in wenigen Tropfen Wasser auf dem Objektglase verbreitet, Deckglas aufgelegt und über der Flamme bis zum Aufkochen erhitzt. Die Stärke ist dadurch genügend verquollen und die so überaus charakteristischen Trümmer des Mutterkornes treten in genügender Klarheit hervor.

Bei geringem Mutterkorngehalte des Mehles durchmustert man das Präparat bei 100—120facher Vergrößerung. Die Mutterkornpartikel fallen durch ihre starke Lichtbrechung, dunkelviolette Färbung bei den Rindenteilen, grünlichgelbe bei den Markteilen und durch ihre eigentümlich gekerbten Konturen auf. Eventuell untersucht man verdächtige Stücke noch bei 300—400facher Vergrößerung. Das Schleimparenchym des Sklerotiums mit seinen dicht aneinander gelagerten, verschlungenen, miteinander verwachsenen und mit Fett erfüllten Hyphen ist unverkennbar.

Künstliche Mischungen mit bestimmtem Mutterkorngehalte ergaben, daß Verf. bei einem Gehalt von 5—3 Proz. in jedem Gesichtsfelde zahlreiche Trümmer fand. Bei einem Gehalt von 2 Proz. waren in jedem Gesichtsfelde 20—30 Mutterkornpartikelchen nachweisbar; bei 10 Proz. deren 10—15, bei 0,5 Proz. noch 5—6, bei 0,2 Proz. 3—4, bei 0,1 Proz. immerhin noch 1—2. Erst bei einem Gehalt von 0,05 Proz. war nicht mehr in jedem, sondern durchschnittlich nur in jedem zweiten Präparat ein sicher als solches erkennbares Bruchstück vom Mutterkorn zu finden. E. Roth (Halle a. S.).

Schutzimpfung, künstliche Infektionskrankheiten, Entwicklungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Sipière, L., Du mildew, son traitement par un procédé nouveau: le lysolage. (Compt. rend. CXX. 1895. p. 220—222.)

Verf. stellte seine Versuche mit Lysollösungen von 1—10:1000 an. Am besten bewährte sich eine Konzentration von 5:1000 (5 g Lysol in 1 l Wasser), da dieselbe weder zu schwach in ihrer Wirkung, noch als schädlich für die Pflanzen selbst sich erwies. Da Peronospora nicht stark auftrat, mußte Verf. seine Beobachtungen mehr auf die Einwirkung der Lysolbespritzung auf die Vegetation der Stöcke, Farbe und Lebensdauer der Blätter, Reife der Trauben etc.

beschränken. In dieser Beziehung kam das Lysol in der angegebenen Dosis der Wirkung der Bordelaiser Brühe gleich. Gegenüber letzterer bietet es aber den Vorteil, daß es auch schädliche Tiere, selbst Raupen tötet, und um 28 Proz. billiger ist. Allein für das Departement Hérault würde demnach die Verwendung von Lysol an Stelle des Kupferkalkes eine Ersparnis von jährlich 1 Million fr., für ganz Frankreich von 15 Millionen bedeuten. Sollte sich das Lysol, wie Verf. nach einer von ihm gemachten Beobachtung geneigt ist, anzunehmen, auch gegen Oïdium bewähren, so würden die Vorteile seiner Anwendung noch wesentlich vermehrt. Empfohlen wird, Besprengungen mit Lysolwasser im April, Mai und Juni vorzunehmen. — Soviel dem Referenten bekannt geworden, haben die Versuche mit Lysol, welche man in Deutschland, insbesondere in Elsaß-Lothringen, in Rebgebieten anstellte, keineswegs besonders günstige Resultate ergeben.

L. Hiltner (Tharand).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

DR. WILHELM WINDISCH.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Abba, F., Manuale di microscopia e di batteriologia applicate all' igiene Torino 1896. 8 £.

Bernstein, Alex, Verfahren der Umwandlung des Kaseïns der Milch in Albumose und Pepton mittels eines Bakteriums. (Pharm. Centralhalle. Bd. XXXVII. 1896. p. 31.)

Farlow, W. G., Mimicry of Fungi in insects. (The Bot. Gaz. Vol. XX. 1895. p. 546—547.)

Frank, G., Die Bedeutung der Bakterien im Haushalte der Natur. (S.-Abdr.) gr. 8°. Wiesbaden (Bergmann) 1896. 0,6 M.

Pettit, R. H., Studies in artificial cultures of Entomogenous fungi. (Cornell University Agricultural Experiment-Station. Botanical and Entomological Divisions. Bull. 97.)

Sheldon, Edmund P., A study of some Minnesota Mycetozoa. (Minnesota Botanical Studies. Bull. 9. 1895. p. 462—482.)

Thaxter, Roland, New or peculiar North American Zygomycetes. I. Dispira. (The Bot. Gaz. Vol. XX. 1895. p. 513—519. With 1 pl.)

Winogradsky, S., Sur le rouissage du lin et son agent microbien. (Moniteur industriel. 1895. No. 51.)

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Sorel, E., Etude sur l'Aspergillus Oryzae. (Compt. rend. des séances de l'Acad. des sciences de Paris. T. CXXI. 1895. p. 948.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Behrens, J., Ueber die Wirkung des Kupfers auf das Gedeihen der Rebe und die Gärung. (Wchschr. des landwirtschaftl. Vereins f. d. Großh. Baden. 1895. No. 27.)

Brodmeier, A., Ueber die Beziehung des Proteus vulgaris Hsr. zur ammoniakalischen Harnstoffzersetzung. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XVIII. 1895. p. 380—391.)

Dyes, W., Ueber Reindarstellung der Gärungsmilchsäure mit einleitenden Versuchen über Destillationen im Vacuum der Quecksilberluftpumpe. [Inaug.-Diss.] gr. 8⁰. Hildesheim (Gerstenberg'sche Buchhandlung) 1896. 1,20 M.

Hansen, Emil Chr., Practical studies on fermentation being contributions to the life of Micro-Organisms. Translated by Alex. K. Miller and revised by the author. 8⁰. 800 p. With numerous illustrations. London and New York (Spon) 1896.

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Luft, Wasser, Boden.

Kirchner u Blochmann, Die mikroskopische Pflanzen- und Tierwelt des Süßwassers. Teil 2. Abt. 1. gr. 4⁰. Mit 8 Tafeln. Homburg (Graefe & Silm) 1896. 26 M.

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Brefeld, Oscar, Der Reis-Brand und der Setaria-Brand, die Entwickelungsglieder neuer Mutterkornpilze. (Bot. Centralbl. Bd. LXV. Jahrg. XVII. 1896. No. 4. p. 97.)

Burkill, J. H., Teratological observations on Parnassia palustris L. (Journ. of Botany British and Foreign. Vol. XXXIV. 1896. p. 12—15.)

Dobeneck, v., Ein unbekannter Rhynchote auf Sinapis alba. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. V. 1895. Heft 6. p. 324. Mit Tafel.)

Erikson, J., Ein parasitischer Pilz als Index der inneren Natur eines Pflanzenbastards. (Botanisca Notiser. 1895. Häft 6.)

Fautrey, F., Une nouvelle maladie du Solanum tuberosum, l'Entorrhiza Solani. (Revue mycologique. T. XVIII. 1896. p. 11.)

Fischer, Ed., Weitere Infektionsversuche mit Rostpilzen. (Mitteil. der naturforsch. Gesellsch. in Berlin. 1895.)

Hennings, P., Ueber Krankheiten von Kulturpflanzen. (Notizbl. d. königl. bot. Gartens u. Museums zu Berlin. No. 3. Ausgeg. am 26. November 1895.) Leipzig (in Komm. bei Wilhelm Engelmann) 1896. 1,20 M.

Martini, S., Completa vittoria sulla tignuola della vite. (Bollettino di Entomologia agraria e Patologia vegetale. T. I. 1896. p. 173—174.)

Mer, Emile, Une nouvelle maladie des feuilles de Mélèze. (Compt. rend. des séances de l'Academie des sciences de Paris. T. CXXI. 1895. p. 964.)

N. N., Insetti che attaccano il grano ed altri semi secchi nei grani, e modi di liberaseni. (Bollettino di Entomologia agraria e Patologia vegetale. T. I. 1896. p. 107—115. Mit 1 Tafel.)

Passerini, N., Contro la Cochylis. (Bollettino della Società toscana di Orticult. T. XIX. 1895. p. 200—206.)

Peglion, V., Esperienze contro le tignuole della vite. (Bollettino di Entomologia agraria e Patologia vegetale. Bd. I. 1896. p. 124—131, 139—144.)

Perroni-Paladini, Effetti della cura estiva colla pitteleina contro le cocciniglie degli Agrumi. (Bollettino di Entomologia agraria e Patologia vegetale. Bd. I. 1896. p. 193—197.)

Prillieux, E., Maladies des plantes agricoles et des arbres fruitiers et forestiers causées par des parasites végétaux. 8⁰. Tome I. Av. 190 grav. Paris (Didot & Co.) 1896.

Renesse, A. v. u. Karus, L., Krankheiten der landwirtschaftlichen Kulturgewächse und deren Verhütung. (Landwirtschaftl. Ztg. Jahrg. XIV. 1896. Heft 1. p. 21.)

Trabut, Sur une Ustilaginée parasite de la betterave, Oedomyces leproides. (Revue mycologique. T. XVIII. 1896. p. 10.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Mallmann, Fr., Zählapparat für Rollröhrchenkulturen. (Zeitschr. f. angewandte Chemie. 1896. Heft 3. p. 73.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Bailey, L. H., Notions about the spraying of trees. (Cornell University Agricultural Experiment Station. Horticultural Division. Bull. 101.)

Scheurlen, Die Bedeutung des Molekularzustandes der wassergelösten Desinfektionsmittel für ihren Wirkungswert. (Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakognosie. Bd. XXXVII. 1896. p. 84—87.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralblatt
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Prof. Dr M. W. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg
herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

II. Band. **Jena**, den 27. März 1896. **No. 5.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige ***Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original-Mittheilungen.

Ueber einen schwarzes Pigment bildenden Kartoffelbacillus.

[Aus dem hygienischen Institute zu Kiel.]

Von

Wilhelm Biel,
approb. Arzt aus Itzehoe.

Als vor einiger Zeit im hiesigen hygienischen Institute der Versuch gemacht wurde, Kulturen von Aspergillus niger, flavus und fumigatus, sowie von Mucor rhizopodiformis, corymbifer etc. zu erlangen, wobei in der üblichen Weise Schnitte

von Weiß- und Schwarzbrot in der feuchten Kammer bei Brüttemperatur gehalten wurden, fand sich auf Weißbrot zweimal ein durch Bildung eines schwarzen Farbstoffes ausgezeichneter Mikroorganismus.

Derselbe dürfte ein gewisses Interesse beanspruchen, da von Bakterien bisher die Bildung eines analogen Farbstoffes noch nicht beschrieben worden ist, — nur bei Cladothrix und ähnlichen — streng genommen nicht zu den Bakterien gehörigen Mikroorganismen — sowie bei Schimmelpilzen etc. hat man das Vorkommen schwarzen Farbstoffes beobachtet.

Die rundlichen, schwarzen, trockenen Flecke, in denen sich der Mikroorganismus zuerst auf dem Brote zeigte, hatten eine gewisse, wenn auch nur entfernte Aehnlichkeit mit Schimmelpilzwucherungen, wie sie gelegentlich auf Brot angetroffen werden, und es ist daher nicht ausgeschlossen, daß solche schwarze Flecke auch von anderer Seite schon gesehen, aber für Schimmelpilzwucherungen gehalten worden sind.

Ueber diesen Mikroorganismus wurde durch weitere Untersuchungen das Nachfolgende in Erfahrung gebracht:

Auf sterilisierte Weißbrotschnitte übertragen, durchwächst der Mikroorganismus dieselben in ihrer ganzen Dicke unter Bildung eines tiefschwarzen Pigmentes. Auf der Oberfläche entsteht — allerdings nur bei starker Durchfeuchtung des Nährbodens — eine schwarzbraune, faltige, feuchte, derbe Haut.

Aehnliches Verhalten zeigt der Mikroorganismus auf sterilisiertem Schwarzbrot. Doch findet hier kräftiges Wachstum nur dann statt, wenn die Säure des Brotes durch Alkali etwas abgestumpft wird.

Kartoffelscheiben werden auf ihrer ganzen Oberfläche in kurzer Zeit von einem anfangs graublauen, später schwarzbraunen, stark gefalteten, feuchtglänzenden Belag überzogen; die Kartoffel selbst wird durch und durch schwarz. Auch hier ist die Entwickelung rascher und kräftiger auf vorher neutralisierten Kartoffeln; der Belag gewinnt dann allerdings ein mehr schmieriges Aussehen. Auf dem schwarzbraun verfärbten Kondenswasser bildet sich ein faltiges Häutchen.

Die Oberfläche von schräg erstarrtem Agar wird von einer faltigen, gelblich-braunen Haut bedeckt; der Agar wird braun bis schwarzbraun verfärbt.

In Agarstichkulturen ist nur im obersten Teile deutliches Wachstum erkennbar. Die Verfärbung schneidet hier ziemlich scharf mit der Wachstumsgrenze ab.

In Traubenzucker-Agar ist die Farbstoffbildung kräftiger als in Agar ohne Zuckerzusatz.

In Gelatineplattenkulturen erscheinen die jungen Kolonieen unter dem Mikroskope unregelmäßig, grau, gekörnt, mit zahlreichen langen, oft spiralig gedrehten Ausläufern versehen. Aeltere Kolonieën sind mehr rundlich, bräunlich, gleichmäßig gekörnt oder flockig, mit deutlich sichtbarer Bewegung im Innern, von einem zarten, lichtgrauen, körnigen, unregelmäßigen Saum umgeben.

Am dritten bis vierten Tage beginnt eine rasch fortschreitende,

schalenförmige Verflüssigung der Gelatine makroskopisch sichtbar zu werden. Die verflüssigte Gelatine erscheint gleichmäßig grau getrübt.

In Gelatinestichkulturen tritt im oberen Teile eine schalenförmige Verflüssigung mit gleichmäßiger Trübung der Gelatine ein, die in kurzer Zeit den Rand des Röhrchens erreicht. Bisweilen bildet sich nach einiger Zeit ein dünnes Häutchen auf der Oberfläche. Im unteren Teile ist das Wachstum kümmerlich und bleibt ganz aus bei Zusatz von 2 Proz. Traubenzucker.

Verfärbung der üblichen Nährgelatine tritt auch in alten Kulturen nicht ein, während Kartoffel- und Bierwürzegelatine nach längerer Zeit schwach gebräunt werden.

Der Mikroorganismus gedeiht am besten in alkalischen Nährböden.

In schwach sauerer Gelatine oder Agar ist das Wachstum erheblich verzögert, das bei etwas stärkerem Säuregrade nur noch bei 37° C erfolgt. Dasselbe bleibt ganz aus, wenn mehr als 2 Proz. Normalalkali zur Neutralisation erforderlich sind.

In gekochter Stärke, der etwas Pepton zugesetzt ist, gedeiht der Mikroorganismus sehr gut unter Bildung eines dunkelbraunen Pigmentes und einer dicken hellbraunen Haut. Auch auf Stärke ohne weiteren Zusatz ist geringes Wachstum bemerkbar.

In Traubenzucker-Bouillonkulturen bildet sich auf der Oberfläche eine hellgelbe faltige Haut, die anfangs getrübte Bouillon klärt sich nach einiger Zeit.

Milch gerinnt bei 37° in 24—36 Stunden, ohne daß die Reaktion eine Veränderung erleidet. Später tritt eine fast vollständige Verflüssigung der Koagula ein. Der Geschmack wird etwas bitter, kratzig, und man erhält die Biuretreaktion. Dabei bildet sich ein geringfügiger schwarzbrauner Bodensatz.

Neutrale Lackmusmolke wird anfangs deutlich blau und getrübt, nach einigen Tagen bräunlich, die Trübung verschwindet allmählich, und man findet dann am Grunde reichlichen feinflockigen, blauschwarzen Bodensatz. Auf der Oberfläche entsteht eine derbe, faltige, netzartig durchbrochene, blaugraue Haut.

Gasbildung wurde in den Kulturen nie beobachtet.

Unsere Vermutung, daß der Mikroorganismus vielleicht in ursächlicher Beziehung stehe zu einer bei Käse vorkommenden Krankheit, die sich durch das Auftreten zahlreicher schwärzlicher Flecke im Innern zu erkennen giebt, konnte durch den Versuch nicht bestätigt werden, da Züchtungsversuche auf Käse regelmäßig mißlangen.

Der Mikroorganismus gehört zu den obligaten Aërobiern. In Buchner'schen Röhrchen ist selbst nach Wochen keine Spur von Wachstum wahrzunehmen.

Das kräftigste Wachstum erfolgt bei 37—40° C. Unter 15° C ist es außerordentlich verzögert; bei Temperaturen über 52° hört es ganz auf.

Im mikroskopischen Bilde erweist sich der Mikroorganismus als ein ca. 2,8—3,6 μ langes, 0,8 μ breites, gerades Stäbchen mit abgerundeten Enden, meistens einzeln, häufig zu zweien zusammenliegend. Selten findet man kurze, ungegliederte Fadenstücke.

Die Stäbchen nehmen die gebräuchlichen Anilinfarben leicht an und werden nach der Gram'schen Methode nicht entfärbt. — Im hängenden Tropfen zeigen sie lebhafte, rotierende oder wackelnde Bewegung, die durch mehrere seiten- und polständige Geißeln hervorgerufen wird.

In älteren Kulturen findet man endogene, mittelständige Sporen von ovaler Form; ihre Länge beträgt ca. 1,2—1,3 μ, ihre Breite 0,7 μ. Eine erhebliche Widerstandsfähigkeit scheint ihnen nicht zuzukommen, da sie durch $^1/_2$-stündige Einwirkung von strömendem Dampfe abgetötet werden.

Für Meerschweinchen und weiße Mäuse besitzt der Bacillus weder bei subkutaner noch bei intraperitonealer Infektion irgendwelche krankheitserregende Eigenschaften.

Es gelang nicht, den Farbstoff mit den gebräuchlichen Lösungsmitteln aus den Kulturen auszuziehen. Es kamen in Anwendung: kaltes und heißes Wasser, absoluter und verdünnter Alkohol, Aether, Chloroform, Benzin, Glycerin, Jodkali, Alkalien organische und anorganische Säuren. Durch keines dieser Mittel wurde eine Veränderung der Farbe hervorgerufen.

Seinem morphologischen und kulturellen Verhalten nach gehört der Mikroorganismus demnach in die Gruppe der sog. Kartoffelbacillen.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Chef, Herrn Prof. Dr. Fischer, für das Interesse und Wohlwollen, das er meinen Arbeiten stets entgegengebracht, auch an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Aspergillus Wentii, eine neue technische Pilzart Javas.

Von

Dr. C. Wehmer.

Mit 1 Tafel.

1. Allgemeines.

Die Darstellung von „chinesischer" Soja („Tao-Yu"), sowie von Bohnenbrei („Tao-tjiung"), welch letzterer mit dem japanischen „Miso" manche Aehnlichkeit hat, bedient man sich auf Java seit lange der Mitwirkung einer Aspergillus-Art, die dem in Japan zu gleichen Zwecken verwendeten Aspergillus Oryzae in einigen Punkten gleicht. Im Spätsommer des verflossenen Jahres gelangte ich durch die Freundlichkeit des Herrn Dr. F. A. C. Went, bekanntlich Leiter der Versuchsstation für Zuckerrohrkultur zu Kagok-Tegal (Westjava), in Besitz einiger Kulturen dieses Pilzes, indem der Absender gleichzeitig eine Meinungsäußerung über das Verhältnis desselben zu jenem Reisaspergillus erbat. Went hob die Aehnlichkeit beider hervor, ließ die Identität jedoch — offenbar aus Mangel an Vergleichsmaterial von Aspergillus Oryzae — offen.

Daß ich mich des interessanten Pilzes mit Vergnügen annahm, bedarf kaum der Erwähnung. Da Vergleiche alsbald eine Verschiedenheit der beiden Species und überall das Vorliegen einer bislang unbekannten, noch nicht beschriebenen Art ergaben, habe ich nach Vereinbarung mit Went weiterhin die Bearbeitung derselben übernommen und den auf den meisten der üblichen Substrate ungemein üppig gedeihenden Pilz, welcher als eine der ansehnlichsten und schönsten Aspergillus-Arten gelten darf, seit ungefähr einem halben Jahre in fortlaufenden Kulturen unter Beobachtung gehabt. Seiner näheren Beschreibung sende ich einige allgemeinere Bemerkungen voraus; für die neue Art selbst schlage ich den auch in Hinblick auf die Umstände angemessenen Namen Aspergillus Wentii vor, zu Ehren des Forschers, dem wir die Bekanntschaft mit ihr verdanken.

Die Sojadarstellung ist auf Java — ich verdanke diese Hinweise der brieflichen Mitteilung ebendesselben — vermutlich von Chinesen eingeführt, also von demselben Volke, das dahin auch das Verfahren zur Darstellung jener als „Ragi“ bekannten „Chinesischen Hefe“ gebracht hat. Es wäre somit immerhin möglich, daß von diesen ursprünglich auch der Aspergillus eingeführt wäre. Andererseits stammt die Kultur Japans gleichfalls aus China, so daß möglicherweise auch der Reisschimmel von hier nach Japan gelangt sein könnte. Denkbar wäre es also immerhin, daß der in beiden Ländern zu gleichem Zwecke benutzte Pilz dieselbe Art wäre, bez. die Javanische Form — wie dies alles auch von Went schon herangezogen wurde — etwa von dem Reisaspergillus abstammte und sich vielleicht unter dem Einflusse des tropischen Klimas soweit geändert hätte. Ueber das Vorkommen des einen oder anderen in China selbst vermag ich allerdings nichts Sicheres anzugeben, wenngleich es wohl von einigem Interesse wäre, dem gelegentlich Aufmerksamkeit zu schenken.

Falls übrigens eine derartige engere Beziehung der beiden Pilze nicht besteht — und gewisse Unterschiede in den Merkmalen lassen sie wohl zweifelhaft erscheinen — so bleibt es doch immerhin beachtenswert, daß man auf Java für denselben Zweck sich gleichfalls eine Aspergillus-Art dienstbar gemacht hat. Diese verdient übrigens auch deshalb Interesse, weil sie nach Angabe Went's (auf Sojabohnen kultiviert) Perithecien bilden kann und somit dem Eurotium Aspergillus glaucus de Bary's sehr nahe steht. Wenn ich sie trotzdem nicht als ein Eurotium bezeichne, sondern die Einheitlichkeit der Gattung Aspergillus nach den so sehr bezeichnenden Konidienträgern einstweilen aufrecht erhalte, so bedarf das in Hinblick auf andere Thatsachen wohl kaum der Rechtfertigung. Dieser Perithecienbildung war naturgemäß besondere Aufmerksamkeit zu schenken; es stellte sich jedoch heraus, daß sie offenbar an ganz besondere Kulturverhältnisse gebunden ist und auf den bei uns üblichen Substraten gewöhnlich ausbleibt. Die Kulturen des Pilzes in Java sind nach Mitteilung meines Gewährsmannes bräunlich-gelb, somit nicht wie die des Aspergillus Oryzae grüngelb, stimmen in der Farbe also wohl mit den hiesigen, deren Aussehen rein

braun bis hellchokoladefarben ist, überein; sie erwachsen dort bei einer mittleren Temperatur von 25—27° C; nachts sind Wärmegrade unter 20° C sehr selten, während mittags die Temperatur oft bis 30° C steigt.

Was die Art der technischen Verwendung des Pilzes betrifft, so ist hier auf die soeben publizierten Mitteilungen Prinsen Geerligs'[1]) zu verweisen; als kräftiger Fermentorganismus und speziell auch als Zuckerbildner (die entstehende Zuckerart ist nach Went's brieflicher Mitteilung Maltose) schließt derselbe sich somit an den länger bekannten Aspergillus Oryzae, sowie die neuerdings durch Calmette, Eijkmann, Went und Prinsen Geerligs studierten Mucorineen des ostasiatischen Gärungsgewerbes an.

Der Pilz hat übrigens nach den Angaben des Letztgenannten eine für seine Verwendung insofern noch bemerkenswerte Eigenschaft, als er nämlich durch teilweise Lösung der Zellhäute den Zellinhalt der verarbeiteten Sojabohne den weiteren Operationen (Extrahieren mit Salzlösung) leichter zugänglich macht, was in Anbetracht des derben Cotyledonargewebes derselben nicht unwesentlich ist. Wennschon das Stärkeverzuckerungsvermögen gerade nicht sehr intensiv zu sein scheint und nach eigenen Ermittelungen jedenfalls nicht an das des Rhizopus Oryzae und Chlamydomucor Oryzae Went und Prins. Geerl. hinanreicht, so ist dem gegenüber das Peptonisierungsvermögen doch ein außerordentlich lebhaftes und erheblich energischer als das des Aspergillus Oryzae. Es scheint mir gerade ihm eine erhebliche Bedeutung für die Aufschließung der eiweißreichen Sojabohne (ca. 40 Proz. Eiweißsubstanz) zuzukommen, wie denn auch Prinsen Geerligs bereits die Bildung von Pepton, Asparaginsäure, Leucin und Tyrosin aus dem Legumin der Bohne angiebt und die Bedeutung des Pilzes dahin verlegt, daß er die in dickwandigen Zellen eingeschlossenen Eiweißstoffe in ein leicht verdauliches schmackhaftes Nahrungsmittel verwandelt.

Die Art und Weise, wie man sich für die Sojadarstellung in Besitz desselben setzt, ähnelt wieder ganz der, wie die Chinesen die Zucker- und Alkoholbildner der Arrakfabrikation „einfangen“. Die gekochten Bohnen werden nach dem Abkühlen und oberflächlichem kurzen Trocknen in der Sonne mit den Blättern von Hibiscus tileaceus bedeckt, worauf er alsbald regelmäßig auf den Bohnen erscheint. Uebrigens soll er nur auf Bohnen und keinem anderen Nahrungsmittel auftreten. Nachdem er begonnen, farbige Konidienträger zu bilden, werden die Bohnen etwas getrocknet, mit kalter Salzlösung einige Tage in Berührung gelassen und mit ihr endlich aufgekocht. Die resultierende, noch mit verschiedenen Vegetabilien („Sojakräuter“) versetzte Flüssigkeit von schwarzbrauner Farbe und aromatischem Geruche ist dann nach dem Einkochen bis zum Salzhäutchen gebrauchsfähig und ein wohlschmeckendes nahrhaftes Gewürz, das in der chinesischen, javanischen und europäischen Küche Javas gleich unentbehrlich ist[2]).

---

1) Chemiker-Zeitung. 1896. 29. Januar.

2) Prinsen Geerligs, l. c.

Bei der Darstellung des zweiten derartigen Präparates, des „Tao-tjiung“ (Bohnenbrei), ist seine Wirkung eine ähnliche. Auch hier findet er sich wieder spontan auf den gekochten Bohnen ein, nachdem solche in mit den Blättern der gleichen Pflanzenart ausgekleideten und bedeckten Schalen kurze Zeit sich selbst überlassen sind. Ob die Sporen des Pilzes sich nun thatsächlich auf den Blättern von Hibiscus zu finden pflegen, ist noch nicht zu ermitteln versucht; möglich wäre es, und es scheint auch so zu sein, aber notwendig wäre es nicht gerade. Prinsen Geerligs sagt darüber nur, daß der Pilz wohl überall vorkommt. Uebrigens werden zur Darstellung des „Bohnenbreies“ die gekochten Bohnen noch mit geröstetem Reismehle vermischt, welches unter der Wirkung des Aspergillus dann teilweise verzuckert wird. Man bringt die Masse nunmehr in eine Salzlösung, aus der sie nach völliger Durchdringung mit Salz herausgenommen wird; sobald sie den Charakter eines steifen, rötlich gefärbten Breies angenommen, ist sie konsumfähig. Die Aufschließung der in ihm noch vorhandenen Bohnenfragmente ist auch hier wieder eine Wirkung des Aspergillus, welcher somit die Verdaulichkeit der ohnedies schwer verdaulichen Sojabohne wesentlich erleichtert.

Es ist das in kurzen Zügen das Wesentliche der schon von Prinsen Geerligs näher geschilderten Verwendung und Wirkung des von demselben sonst nicht näher berücksichtigten Pilzes, dem nunmehr seine Beschreibung folgen möge. Der Autor bezeichnet ihn nur als eine dem Aspergillus Oryzae-ähnliche Pilzart.

2. Der Pilz.

Auf festen wie flüssigen Substraten bildet die Art dicht verwebte, zunächst rein schneeweiße Decken, auf denen schon nach wenigen Tagen zahlreiche vertikal emporwachsende, kurze, weiße Fäden erscheinen. Es sind das die jugendlichen Konidienträger mit bereits deutlich sichtbaren, doch zunächst noch weißen Köpfchen. In diesem Zustande sind sie schon in ihren Einzelheiten voll entwickelt und im Beginne der Konidienabschnürung (Fig. 6). Während das Köpfchen sich dann vergrößert und der Stiel eine weitere Streckung erfährt, vollzieht sich nun eine allmähliche Färbung jenes; anfangs fahlgelb wird es bald grüngelb, bräunlich-gelb oder sattgelb, dann etwas dunkler, um endgiltig nach ungefähr 4—8 Tagen die für dasselbe im ausgebildeten Zustande charakteristische Farbe — ein helles oder mittleres Nußbraun bis Chokoladebraun — anzunehmen. In diesem Stadium ist der Sporenträger von ansehnlicher Größe (2—4 mm); ein schlanker, fester, farbloser Stiel trägt einen zunächst noch glatt kugelrunden, fast stecknadelkopfgroßen gefärbten Kopf (Fig. 2), dessen Oberfläche dann allmählich das durch massenhaftes Anwachsen der Sporenmengen bedingte unregelmäßige Aussehen annimmt. An Stattlichkeit übertrifft der ganze Apparat den aller anderen mir näher bekannten Aspergillus-Arten und stellt wohl den ansehnlichsten der bislang beschriebenen Konidienträger dar, indem er jederzeit mit bloßem Auge ungemein leicht in seinen Einzelheiten erkannt wird (Fig. 7). Er übertrifft somit auch den von Aspergillus Oryzae, niger, glaucus,

flavus, um nur einige bekanntere herauszugreifen. Schon das ist ein beachtenswertes Merkmal, dem sich dann weiterhin noch die charakteristische Färbung zugesellt.

Die mit Konidienträgern meist dicht besetzten Decken haben in diesem Entwickelungsstadium somit auch die gleiche hell- bis chokoladebraune Farbe, während die zur eigentlichen Decke verwebten sterilen Hyphen farblos bleiben, bez. erst im Alter sehr schwach gelbliche oder hell-fleischrote Töne annehmen. Sie beschränken sich jedoch nicht auf Formierung jener Decke. Auf festem Substrate (gekochter Reis) durchsetzen sie dasselbe bald und relativ rasch bis zu einer erheblichen Tiefe, wobei die Reiskörner von ihnen um- und durchwachsen werden, aber sowohl hier wie auf flüssigen Medien kommt es fast regelmäßig zu einer bezeichnenden sehr ergiebigen Luftvegetation (Fig. 11). Unter reichlicher, ungemein zierlicher Verzweigung steigen buschartig schneeweiße Mycelien senkrecht empor, um insbesondere bei Anlehnung an die Wandung der Kulturgefäße als watteartige Massen centimeterhoch (3—8 cm) in den Luftraum sich zu erheben. Von anderen Aspergillus-Arten ist mir in ähnlicher Weise diese Erscheinung nur von Aspergillus glaucus bekannt; sie ist aber bei ihm bei weitem nicht so auffällig und keinenfalls auch so regelmäßig in ihrem Erscheinen. Bei Kulturen in Reagensröhren vermißt man sie nie, aber auch in weiten Erlenmeyer-Kolben ist sie häufig, so daß sie als eine weitere bezeichnende Eigentümlichkeit der Art gelten darf.

An diesen spinngewebeartigen Mycelien — die übrigens keine Stolonen oder dgl. sind — kommt es gleichfalls zu einer reichen Konidienträgerbildung in freiem Raume, was im übrigen ja eine ergiebige Stoffleitung von dem tiefer liegenden Substrat her voraussetzt. Die Hyphen sind demgemäß auch mehrfach von ansehnlicher Dicke (10 μ) und derberer Wand; Plasma führen sie bald in regelmäßiger Kontinuität (häufige Vakuolenbildung), bald nur in Unterbrechungen, und es ist bemerkenswert, daß es nicht selten in ihnen unter Abscheidung einer besonderen schwach verdickten Wand zu einer Art Gemmenbildung kommt, wie wir sie ähnlich bei Mucorineen zu sehen gewohnt sind. Die isolierten ovalen Plasmapartieen grenzen sich dann durch eine besondere Membran allseitig von der Mutterhyphe ab, ohne im übrigen jedoch durch eine besonders dichte Substanzansammlung ausgezeichnet zu sein.

Was nun den mikroskopischen Bau des Konidienträgers betrifft (Fig. 1—6), so ist derselbe mit wenigen Worten gut zu charakterisieren. Zunächst ist derselbe selbst bei variabler Größe sehr gleichmäßig, so daß auffällige Differenzen auch bei sehr verschieden großen Trägern nicht vorkommen. Es sind derbwandige, einzellige, schlanke Organe mit streng kugeligem Kopfe, dessen Blase sich stets scharf gegen den Stiel absetzt, so daß also kolbige Anschwellungen (wie bei Aspergillus Oryzae) nicht vorkommen. Die derbe Wand (1,4—2,8 μ dick) des Stieles sowie der kugeligen Blase ist glatt und farblos. Letztere ist durchweg allseitig dicht mit radial ausstrahlenden schlanken und unverzweigten Sterigmen

besetzt, die ungemein ergiebig lange Konidienketten in der bekannten Weise abschnüren. Zur leichteren Unterscheidung von sonst ähnlichen Species ist die relative Länge der Sterigmen (sie erreichen ein Drittel bis nahezu die Hälfte des Blasenradius) beachtenswert; im übrigen besteht eine gewisse Aehnlichkeit nur mit Aspergillus flavus, A. Ostianus sowie etwa mit den kugeligen (nicht den keulenförmigen!) Köpfchen des A. Oryzae[1]), mit denen die Art aber schon bei Beachtung der makroskopischen Merkmale nicht zu verwechseln ist. Das mikroskopische Bild des Trägers an durchsichtig gemachten Präparaten (Fig. 1, 3) zeigt den unvermittelt in die endständige Kugel übergehenden, in seinem Verlaufe überall gleich dicken Stiel[2]), einen ziemlich ansehnlichen, die Blase umgebenden Strahlenkranz (Sterigmen) und an ihn direkt sich anschließend die Strahlen der Konidienreihen, welche auch nach entsprechender Präparation noch reichlich zu Ketten fest vereinigt vorhanden sind. Das ganze Köpfchen erscheint dann je nach dem Altersstadium gelblich bis braun.

In Wasser oder Alkohol untersuchte Präparate, denen selbst nach Abschwemmen stets noch übergenug der Konidien fest anhängen (Fig. 2), lassen schon auf Grund der diesen zukommenden Farbe die Details des Köpfchenbaues nicht erkennen, sofern nicht etwa die Teile durch Zerzupfen isoliert werden; geeigneter sind dazu schon ganz junge, noch weiße Stadien (Fig. 4, 6) oder ältere, einige Zeit in Glycerin gelegte Köpfe.

Hinsichtlich der Konidien (Fig. 9) ist ebenfalls die Gleichmäßigkeit in Gestalt und Größe bezeichnend. Von vereinzelten Abweichungen abgesehen, sind es verhältnismäßig kleine (4,5 μ im Durchm.), meist streng kugelige, seltener sehr schwach längsgestreckte, hellgelbliche, zartwandige, mit sehr feinen Warzen dichtbesetzte Organe, die hiernach immerhin merklich auch von denen des Aspergillus Oryzae abweichen. Seltener findet man einzelne um ein Geringes kleinere, glatte und ovale Gebilde, die wohl als jüngere Stadien aufzufassen sind, denn im allgemeinen macht ja auch die Konidie von dem Augenblicke ihrer Abgrenzung an noch eine weitere Entwickelung (bis zur Ausgestaltung des fertigen alten Organes) durch, wie das in manchen Fällen durch unmittelbare Beobachtung der noch ansitzenden Ketten festgestellt werden kann; durch präparative Eingriffe herbeigeführter Zerfall der Ketten ergiebt dann notwendig das Vorliegen verschiedenartiger Ausbildungsformen. Als alleinige Träger des der Art zukommenden Farbstoffes lassen die Konidien denselben bei Anwendung stärkerer Vergrößerungen auch hier nur in dichteren Massen beisammenliegend auffällig werden. Ueber die Natur der feinen Warzen ist bei deren sehr geringer Größe nichts sicheres auszusagen, jedenfalls erscheinen sie farblos, was ich in Hinblick auf die der Konidien von Aspergillus niger hervorhebe, wo sie als Träger der dunklen Farbe erscheinen.

1) Vgl. Fig. 8 Taf. I im Centralbl. f. Bakt. II. Abt. 1895. (Wehmer, Aspergillus Oryzae, der Pilz der japanischen Sakébrauerei.)

2) An der Basis findet insbesondere bei terminal entstehenden Trägern naturgemäß eine entsprechende Verjüngung statt (Fig. 5).

Die Entwickelungsgeschichte bietet wenig Bemerkenswertes, indem die Keimung der Konidien wie die spätere Ausbildung der Konidienträger sich an bekannte Fälle anschließen. Letzterer als weitlumiger Seitenzweig oder auch einfache Fortsetzung[1]) (Fig. 1, 5, 6) einer gewöhnlichen Hyphe entstehend, verdickt von der Basis ab fortschreitend seine Wandung und bildet schon sehr frühzeitig ein zartes kugeliges Köpfchen aus (bei Aspergillus Oryzae sind die jungen Anlagen kolbige Schläuche), dessen Wachstum dann mit dem des sich streckendes Stieles fortschreitet und gleichfalls sehr bald zur Sterigmenentwickelung führt (Fig. 4); es sind, wie schon bemerkt, die zarten, kaum 0,5—1 mm langen, noch rein weißen Träger bereits in allen Teilen fertig angelegt, so daß, abgesehen von dem noch stattfindenden Wachstume, nur noch die Konidienabgliederung fehlt, die gegenüber der raschen Entwickelung der ersten Stadien (wenige Tage) offenbar sehr lange (Wochen) andauert. Gewöhnlich sind die zu einer gewissen Zeit in einer Kultur vorhandenen Organe ziemlich gleichalterig, so daß die Anlage mit Vorliebe trupp- oder wohl besser generationenweise erfolgt und etwas älteren Decken jüngere Konidienträgerstadien jedenfalls oft mangeln.

Ich gelange damit zu der Frage nach etwaigen fruchtartigen Organen, muß jedoch gestehen, daß ich in dieser Beziehung bislang wenig Sicheres ermittelt habe. Nach Went's brieflicher Mitteilung bildete der Pilz auf Java Perithecien als er auf gekochten Sojabohnen etwas trocken gehalten wurde. Da mir diese nicht zur Hand waren, hoffte ich die Erscheinung auf Reis oder Agar beobachten zu können, denn auf flüssigen Medien fand ich nie irgendwelche Andeutung dazu auf. Aber auch diese Versuche waren im ganzen ohne den beabsichtigten Erfolg. Allerdings beobachtet man auf Agar (mit Zuckerpepton) wiederholt das Auftreten kleiner (ca. $^1/_3$ mm im Durchm. haltender) gelber, aus locker verflochtenen, gefärbten Hyphen zusammengesetzter kugeliger Gebilde, die wohl mit einiger Wahrscheinlichkeit als junge Stadien von Schlauchfrüchten angesprochen werden dürfen, eine Weiterentwickelung habe ich jedoch bislang nicht gesehen, sodaß ich auf diesen Punkt bei Gelegenheit zurückkommen muß, sobald da positive Resultate vorliegen. Es ist sehr wohl möglich, daß die Wärmeverhältnisse nicht die richtigen waren, denn meine Kulturen sind durchweg bei Zimmertemperatur (13—18° C) ausgeführt, da auch hier der Pilz ungemein üppig gedeiht. Den javanischen ähnliche Verhältnisse lassen sich ja unschwer im Brütofen herstellen. Inwieweit dabei gleichzeitig etwa die besondere Natur des Substrats in Frage kommt, bleibt zu ermitteln.

3. Physiologisches.

Trotz seines Charakters als Bewohner eines tropischen Klimas gedeiht der Pilz auch bei mittler Temperatur (13—18° C) ausnehmend kräftig, und die Entwickelung ist keineswegs träge, sondern

1) Dieser zweite Fall ist sogar relativ häufig und er liefert bei dieser Species auch Träger ganz gleicher Art, was sonst nicht immer der Fall ist (cf. Wilhelm, Pilzgattung Aspergillus. 1879). Bemerkenswert sind die gelegentlich auftretenden basalen Ausstülpungen (Fig. 5). Querwände fehlen so gut wie stets.

hält mit der anderer Arten wenigstens gleichen Schritt. Dabei sagen ihm die bei uns üblichen Nährböden gut zu, sodaß er leicht auf Bierwürze, gekochtem Reis, Gelatine, Stärkekleister, Agar oder Zuckerlösung (die letzten drei mit Nährsalzen oder Pepton) zu ziehen ist, und die bereits nach 24 Stunden reichlich gekeimten Konidien binnen 4—6 Tagen volle Decken liefern. Auf festen Substraten insbesondere entwickelt sich binnen wenigen Tagen — alle meine Angaben beziehen sich auf bei Zimmertemperatur von 13—18° C angestellte Kulturen — ein starker schneeweißer, wolliger Rasen, dessen ansehnliche langgestielte Sporenträger sich bereits frühzeitig zu färben beginnen, und durch ein helleres grünliches bis bräunliches Gelb allmählich in jenes charakteristische chokoladefarbene Braun übergehen, welches in ganz gleicher Nüance auf den verschiedenartigen Nährböden (Zuckerlösung, Würze, Gelatine, Reis) erscheint, somit als solches konstant und überdies der Zeitwirkung gegenüber sehr beständig ist, indem es selbst auf monatealten Kulturen noch keine Farbenänderung erleidet, wie man solche durchweg bei den grünen Arten und speziell auch bei Aspergillus Oryzae auftreten sieht. Der Farbstoff wird durch Alkohol nicht extrahiert, wie dies bei dem ähnlichen Pigment des Aspergillus Ostianus m. der Fall ist.

Reiskörner werden von ihm rasch umsponnen und durchwachsen, Stärke wird langsam verzuckert, und Würzegelatine verflüssigt. Bei 5 Proz. Gelatinezusatz (Strichkultur im Reagenzglas auf schräger Oberfläche) ist diese Verflüssigung ganz erheblich schneller als durch Aspergillus Oryzae; nach 3—5 Tagen ist sie bei Aussaat in Strichkultur schon deutlich wahrnehmbar, und nach der doppelten Zeit ist ein guter Teil des Substrats in eine dünnflüssige Masse verwandelt, während der Pilz üppige wollige Massen mit reichlichen Konidienträgern gebildet hat. Stärkerer Gelatinegehalt verzögert auch hier die Wirkung, zumal bei niederer Temperatur. Stärkekleister mit 5 Proz. (langsamer mit 10 Proz.) Kartoffelstärke und mineralischen Nährsalzen geht von der Decke aus langsam (in Tagen) in eine wässerige, Fehling'sche Lösung reduzierende Flüssigkeit über.

Keimfähig sind die Konidien bereits aus ganz jungen Kulturen, und ein Unterschied in der Entwickelungsschnelligkeit zwischen diesen und einige Monate älteren ist nicht bemerkbar. Die Keimung geht in üblicher Weise durch Austreiben eines zarten Schlauches vor sich. Ueber die endgiltige Dauer der Keimfähigkeit habe ich noch kein Urteil.

Gärungserscheinungen wurden (ebensowenig wie Sproßzellbildung) in Würze (12—14° Brix) bislang nicht beobachtet, auch Nebenprodukte besonderer Art beim Umsatz von Zucker nicht aufgefunden. Die in Würze ausgesäeten Konidien lieferten stets nur die normale Deckenvegetation; das ist also nicht anders wie bei Aspergillus Oryzae.

4. Vergleich mit ähnlichen Arten.

Zu einem hier noch in Kürze zu berührenden näheren Vergleich kommen die von Saccardo[1]) unter „flavescentes et fulvi" verzeichneten Aspergillus-Arten in Betracht, deren Zahl 9 beträgt.

1) Sylloge fungorum. Bd. IV. (Hyphomyceten) 1886. p. 69 u. f.

Von diesen ist Aspergillus flavus ein Pilz von ganz anderem Aussehen (Farbe, Größe), wie schon die mir von demselben vorliegenden Kulturen darthun. Aspergillus flavidus B. et Br. (Ceylon) hat nach der kurzen Diagnose breit elliptische, 6—7 μ lange Konidien, ermangelt im übrigen einer ausreichenden Beschreibung. Aspergillus fimeti Sacc. (Norditalien) besitzt ovale Blase und ebensolche Konidien (8—10 × 6—7 μ), überdies angeblich keine (?) oder sehr kleine Sterigmen. Von Aspergillus alutaceus B. et C. (Nordamerika) erfahren wir leider eigentlich nur, daß er kugelige Konidien besitzt. Der besser charakterisierte Aspergillus spiralis Grov. (England) weist neben gefärbten Hyphen u. a. eine keulige Blase neben verschieden gestalteten und gefärbten 10—12 μ großen Konidien auf. Die alte Link'sche Species Aspergillus laneus ist nach der Beschreibung allein wohl nicht zu erkennen, und ähnliches gilt für Aspergillus ferrugineus Fuck., sowie Aspergillus africanus Dur. et Mont. (Algier). Aspergillus flavescens Wred. endlich ist keine distinkte Species und schon von Lichtheim[1]), dem Originalmaterial beider Pilze vorlag, als mit Aspergillus flavus identisch angegeben.

Im Supplementum universale 2 (Bd. 10 des Sylloge), 1892, p. 524, findet man dann noch 3 durch Farbe und anderes hinlänglich abweichende Arten. Auch die wenigen, noch späterhin beschriebenen neuen Species[2]) kommen, soweit sie an sich nicht schon Sterigmatocysten sind, zu einem näheren Vergleiche nicht in Betracht. Soweit mir selbst die einzelnen Species bekannt geworden sind, ähnelt der Pilz in der Färbung wohl am meisten noch dem Aspergillus Ostianus (sowie ebenso dem Wilhelm'schen Aspergillus ochraceus, der jedoch eine Sterigmatocystis ist), bei dem dieselbe freilich mehr ins gelbliche geht; die übrigen — so auch Aspergillus flavus, Oryzae, sulfureus u. a.) sind mit ihm nicht zu verwechseln.

Speziell käme nach dem eingangs Dargelegten vielleicht noch in Frage, ob nicht eine größere Aehnlichkeit mit dem Reisaspergillus vorliegt, die etwaigenfalls zu einer Vereinigung der beiden Formen (die eine als Varietät der andern) führen könnte. Ich glaube das mit Bestimmtheit ausschließen zu dürfen. Färbung, Gestalt der Konidienträger, Beschaffenheit der Konidien, Art der Entwickelung des vegetativen Mycels zeigen konstante Unterschiede, die eine nähere Beziehung nicht möglich machen, und als „gute“ Speciesdifferenzen gelten müssen. Es genügte wohl schon die in den vergleichenden Kulturen regelmäßig auftretende ganz verschiedene Farbe (grün-gelb gegen chokoladebraun), um das hinreichend zu begründen; jedenfalls ist aber der Unterschied der Konidien entscheidend, selbst wenn wir von dem Bau ihres Trägers absehen wollten, oder physiologische Differenzen weniger hoch anschlagen.

Der Pilz bildet nach allem eine „gute“ Species, die von dem

1) „Die Fadenpilze Aspergillus flavus, niger und fumigatus.“ p. 23. Wiesbaden 1883.

2) Aspergillus spurius Schröter; Aspergillus Rehmii Zukal.; Sterigmatocystis Ficuum Hennigs.

Aspergillus Oryzae in gleichem Maße verschieden ist, wie etwa Aspergillus flavus, Aspergillus glaucus oder andere Arten dieser Gattung.

5. Diagnose.

Aspergillus Wentii nov. spec.

Steriles Mycel schneeweiß, aus stark verzweigten septieren Hyphen bestehend, kriechend, in das Substrat eindringend oder als üppig entwickeltes Luftmycel aufsteigend, auf Flüssigkeiten auch zu dichten Decken verflochten. Farbe der reifen Konidienrasen stets kaffeebraun bis hell chokoladebraun. Konidienträger zahlreich, dichtgestellt, von sehr ansehnlicher Größe, mit glattem derbwandigen hellen Stiel und fast stecknadelkopfgroßem Köpfchen, das (anfangs farblos, dann gelblich bis gelb-braun) im Verlauf einiger Tage seine charakteristische braune Farbe annimmt. Blase derbwandig, glatt, stets streng kugelig, scharf gegen den überall gleichdicken Stiel abgesetzt und allseitig von dicht gedrängt stehenden unverzweigten, radial ausstrahlenden schlanken Sterigmen besetzt, welche an Länge der Hälfte des Blasendurchmessers fast gleichkommen und massenhaft lange Ketten von relativ fest verbundenen Konidien abschnüren, die auch nach der Präparation nur teilweise abfallen und noch vielfach zu kürzeren oder längeren Verbänden vereinigt bleiben. Die reifen Konidien sind sehr gleichmäßig in Gestalt und Größe, meist kugelrund, seltener sehr schwach gestreckt, verhältnismäßig klein und sehr fein gekörnelt (feinwarzig). Daneben findet man meist vereinzelt und selten etwas kleinere glatte ellipsoidische, die dem Anscheine nach jüngere Stadien vorstellen. Vielfach finden sich sehr zarte „Zwischenzellen".

Perithecien gewöhnlich fehlend, doch gelegentlich (nach Went) vorhanden (Java); Näheres über Bau, Asci, Sporen etc. bleibt noch festzustellen.

Vorkommen: Auf gekochten Sojabohnen (Java) spontan auftretend und technisch für die Darstellung von Soja-Sauce und „Bohnenbrei" benutzt, Kagok-Tegal (Westjava). Gedeiht üppig bei Zimmertemperatur auf Reis, Stärke, Gelatine, Bierwürze, Zuckerlösung (weniger gut auf Agar) und hierauf reichlich gezüchtet (Hannover). Löst und verzuckert Stärke wie celluloseartige Stoffe. Peptonisiert lebhaft.

Größenverhältnisse.

Hyphendurchmesser . .	4 μ (bis 10 μ)
Konidienträger	3—4 mm hoch [1])
Stieldicke	17—30 μ (Wanddicke 1,4—2,8 μ)
Köpfchendurchmesser .	150—300 μ
Blasendurchmesser . .	75—90 μ

1) Diese Dimensionen für den Konidienträger und seine Teile beziehen sich auf gut entwickelte, mittlere Exemplare, lassen also gelegentlich Abweichendes unberücksichtigt. Die für den Köpfchendurchmesser gegebene Zahl versteht sich für das in den Präparaten zur Beobachtung kommende Köpfchen (also ohne die losen abschwemmbaren Konidienmassen).

Sterigmen . . . . . . 15 × 4 μ
Konidiendurchmesser . . 4,5 μ (Grenzwerte 4,2—5,6 μ).

Hannover, Januar 1896.

Techn.-Chem. Laborat. d. Techn. Hochschule.

Tafelerklärung.

Fig. 1—4. Konidienträger in um ein Geringes verschiedenen Altersstadien bei gleicher Vergrößerung gezeichnet. Fig. 1, 3 und 4 in Glycerin liegend (opt. Durchschnitt), Fig. 2 Habitusbild des Köpfchens. Fig. 4 junges Stadium, noch weifsköpfig und ohne Konidienbildung. Präparat von einer Kultur auf Reis.

Vergröfserung ca. 40 (hier wie weiterhin gez. nach System 2 u. 7 Ocul. 3—5 des P. Altmann'schen Bakterienmikroskops).

Fig. 5. Allmählich in eine gewöhnliche Hyphe übergehende Basis eines Konidienträgers mit zwei schlauchartigen Ausstülpungen. Bei *a* ist die Grenze unterhalb der die Wandverdickung aufhört. Vergr. ca. 200.

Fig. 6. Junger Konidienträger mit beginnender Sporenbildung (weifses Köpfchen). Altersstadium annähernd das von Fig 4. Inhalt von Stiel und Blase noch mit wolkigem Plasma; die bereits ansehnliche Wanddicke insbesondere der letzteren tritt deutlich hervor; nach unten wieder allmählicher Uebergang in eine einfache dünnwandige Hyphe (optischer Durchschnitt). Glycerinpräparat aus Reiskultur. Vergr. ca. 220.

Fig. 7. Ein Reisfragment mit Konidienträgerrasen; ungefähr natürliche Gröfse (sehr wenig vergröfsert).

Fig. 8. Stück eines sehr derbwandigen Stieles eines alten Konidienträgers; die im Präparat hellglänzende Wand (opt. Durchschnitt) ist unschattiert gezeichnet. Stieldurchmesser hier 15,6 μ, Wanddicke 2,8 μ (gegen sonst 1,4—2 μ). Vergr. ca. 300.

Fig. 9. Konidien, *a* = normale Gestalt, *b* = seltenerer Fall. Vergr. ca. 660.

Fig. 10 und 11. Aspergillus Oryzae (Fig. 10) und Asp. Wentii (Fig. 11) in Reagenzglaskulturen auf gekochtem Reis wachsend, und die charakteristischen Verschiedenheiten der Vegetationen dieser beiden Pilze zeigend (verkürzt gezeichnet). Der eine bildet eine gleichmäfsig körnige Decke mit zarteren Konidienträgern, der andere erhebt sich mit schneeigen Luftmycelien um mehrere Centimeter, und zeigt stattlichere und derbköpfige Träger, die auch reichlich an den Luftmycelien entstehen.

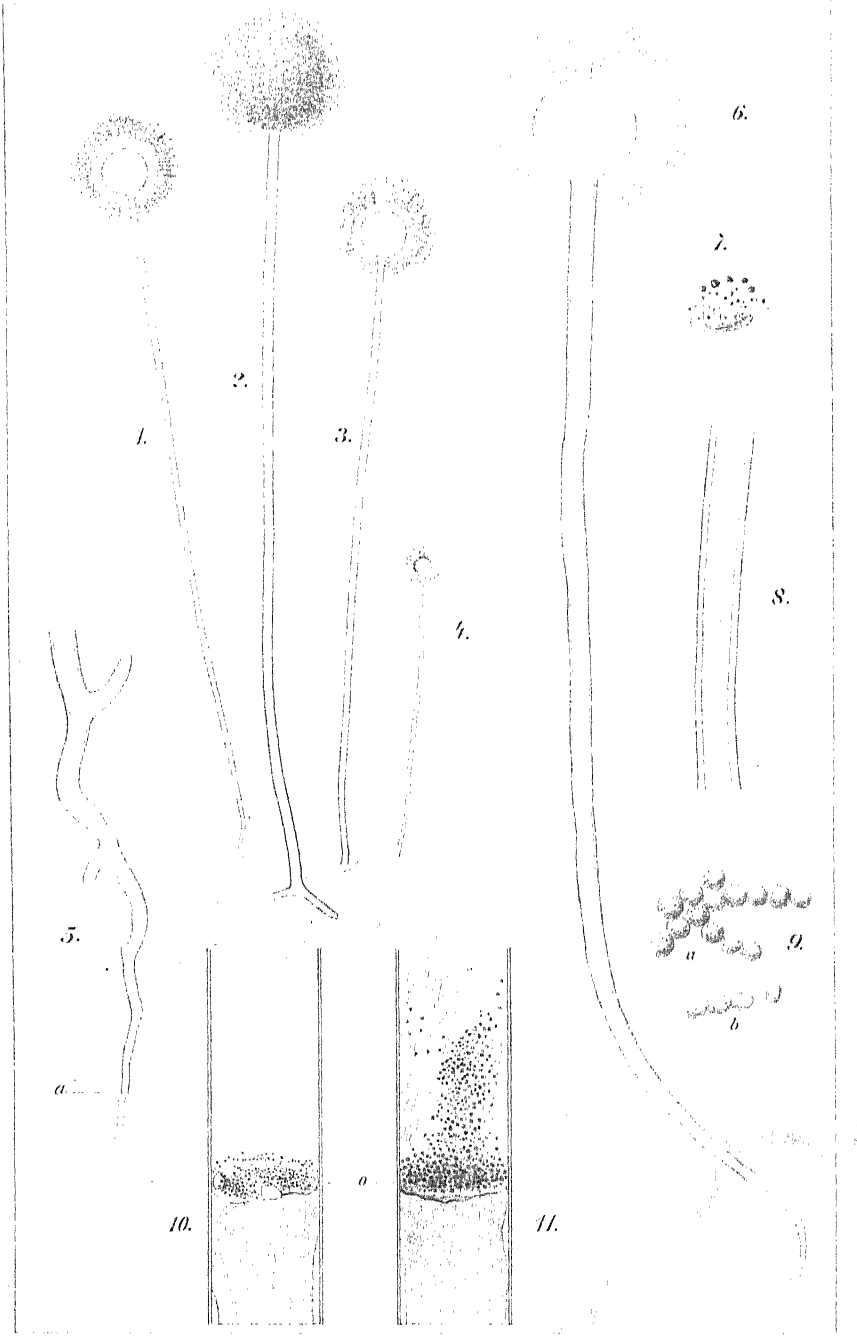
Unterhalb der Oberfläche (*O*) sind die Reiskörner von den beiden Pilzen zu einer kompakten Masse verwebt. Natürliche Gröfse.

Ueber den jetzigen Stand der bakteriologischen Forschung auf dem Gebiete des Käsereifungsprozesses.

Von

Dr. H. Weigmann.

Unter obigem Titel macht v. Freudenreich Mitteilung über einige Beobachtungen, welche ihn zu der Annahme zurückführen, daß der Käsereifungsprozeß im wesentlichen der Anwesenheit von anaëroben Bakterien zuzuschreiben ist. Veranlaßt durch die v. Freudenreich'schen Mitteilungen, seien im folgenden ebenfalls mehrere die Käsereifung betreffende Beobachtungen und Erfahrungen mitgeteilt, welche im Laufe verschiedener bakteriologischer Arbeiten gemacht wurden, und welche, weil ursächlich und zeitlich zusammenhangslos, und meist gelegentlich gemacht oder weil infolge anderer wichtigerer Arbeiten aufgegeben, nicht weiter veröffentlicht worden sind, sondern


1.
2.
3.
4.
5.
a.
6.
7.
8.
9.
a
b
10.
o
11.

nur teilweise in den Jahresberichten der milchwirtschaftlichen und bakteriologischen Abteilung der Versuchsstation Kiel mitgeteilt wurden. Die aus diesen Beobachtungen hervorgehenden Schlußfolgerungen fanden ebenfalls zum Teil in diesen Jahresberichten ihre Stätte und erhielten in Bezug auf das bei der Käsereifung auftretende Aroma resp. den Charakter der ganzen Reifung Ausdruck durch die von mir veranlaßte und aus unseren mehrjährigen Beobachtungen hergegangene und von W. Baier in seinem Artikel: „Ueber Buttersäuregärung“ ausgesprochene Anschauung über die Bildung dieses Aromas.

Zunächst machte auch ich, und zwar schon vor mehreren Jahren, die Erfahrung v. Freudenreich's, daß die mit dem gewöhnlichen Gelatineplattenverfahren angestellte bakteriologische Analyse eine Aufklärung über den Reifungscharakter der meisten Käse kaum giebt, es müßten denn Käse zur Untersuchung gelangt sein, bei denen ein bestimmter Pilz durch bestimmte Herstellungs- und Züchtungsweisen ganz in den Vordergrund getreten ist. Während man erwarten sollte, in dem im vollen Reifungsprozeß stehenden Käse diejenigen Bakterienarten in großer Zahl vorzufinden, welche die Reifung überhaupt und ganz besonders die, welche den Charakter, der die betreffende Käseart auszeichnet, hervorrufen, erhält man eine größere Zahl von Bakterienarten, die sich beinahe auf den ersten Blick als gewöhnliche Luft- und Wasserbewohner erkennen lassen. Dieses von mir bei der Analyse von Edamer Käse erhaltene Resultat (vgl. Jahresber.) stimmt mit dem v. Feudenreich'schen insofern noch weiter überein, als auch hier nur ausnahmsweise „verflüssigende“ Bakterien gefunden wurden. Dagegen fanden sich immer mehrere Arten von peptonisierenden Bakterien, die aber, wie gesagt, ebenfalls nichts besonders Charakteristisches aufwiesen, so daß ich die ganze Untersuchung als kaum zum Ziele führend bald wieder aufgab.

Gelegentlich (1890) wurde versucht die Frage zu beantworten, inwieweit das Nachwärmen bei der Herstellung der Hartkäse und namentlich die dabei angewandten verschieden hohen Temperaturen die Pilzflora eines Käses beeinflussen möchte. Es wurde die gleiche Milch vor und nach dem Erwärmen auf 55° C bakteriologisch untersucht. Während die Milch vor dem Erwärmen eine ungeheuere Zahl der verschiedenartigsten Bakterien ergab und die Originalplatten einen Geruch nach fauligem Wasser verursachten, zeigten die Platten (Molkengelatineplatten) der auf 55° C erhitzten Milch beinahe eine Reinkultur einer einzigen in tiefen Trichtern liegenden Bakterienart, eines sehr großen Coccus. Die Platte selbst verbreitete einen angenehmen aromatischen, zugleich aber fein käseartigen Geruch. Die Kolonieen wuchsen sehr langsam, so daß sie erst nach etwa 5 Tagen deutlich sichtbar wurden, sie liegen, wie gesagt, in sehr tiefen Verflüssigungstrichtern und sind rundlich, aber traubig oder lappig ausgewachsen. In Milch erzeugt die Bakterie erst keine Wirkung, erst nach 5—6 Tagen wird die Milch heller, also peptonisiert, ohne vorher eine labähnliche Gerinnung durchzumachen. Der Geruch der Milch ist aromatisch käseartig.

Mit dieser Bakterie nun wurde ein Käse nach Gouda-Art her-

gestellt, um die Wirkung derselben bei der Käsereifung kennen zu lernen. Etwa 12 l Milch wurden 15—20 Minuten auf 65° C erhitzt, über den Kühler in die Käsewanne laufen lassen, die Kultur des Bacillus in Milch dazwischen gemischt und dann bei 33° gelabt. Der erbsengroße Bruch war im ganzen wohl etwas weich, ließ sich aber doch gut schneiden und schied sich sonst schön ab. Er wurde auf 48—50° C nachgewärmt. In der Presse verhielt sich der Käse normal. Es wurde der bei Goudakäse übliche Druck und die sonst für denselben Käse übliche Behandlung angewendet.

Nach 1 Monat wurde der Käse angebohrt. Er zeigte eine schön geschlossene schnittige Masse, mit linsengroßer gleichmäßig verteilter Lochung, einen schönen käseartigen Geruch, doch einen bitteren und dabei eigentümlich säuerlichen Geschmack. Nach weiteren 6 Wochen zeigt der Käse in den Augen Saft (Thränen), Geschmack etwas schärfer, nicht mehr so bitter, sondern süßer, aromatischer und dem Geschmack des Schweizerkäses ähnlich. 4 Monate nach der Herstellung (dem letzten Termin der Beobachtung) zeigte der Geschmack des Käses eine noch größere Aehnlichkeit mit dem des Schweizerkäses; der Geschmack des Goudakäses war nicht zu beobachten.

Wenngleich nun die Erhitzung der Milch auf 65° C sowie die Nachwärmung des Bruches auf 48—50° C zu der eigentümlichen Reifungsrichtung und dem besonderen Geschmack des Käses mit beigetragen haben mögen, so darf man der Wirkung der zugesetzten Kultur doch wohl den größten Anteil daran zumessen.

Eine weitere Beobachtung ist folgende (vgl. Jahresber. der milchw. und bakt. Abtg. der landw. Versuchsstation Kiel 1891/92). Gelegentlich des Studiums der bei unvollkommener Sterilisierung in Milch zurückbleibenden Bakterien wurde Milch angetroffen, welche einen merkwürdig fauligen, aber doch zugleich aromatisch-käseartigen Geruch zeigte. Die Untersuchung ergab eine Bakterie, welche in der sterilen Milch dieselben Eigenschaften hervorrief. Die Kolonieen auf gewöhnlicher Fleischwassergelatine verflüssigen die Gelatine, der Rand der Verflüssigungsmilch ist unregelmäßig, der Inhalt besteht aus grauweißen Flocken, ohne besondere Zeichnung bezüglich regelmäßiger Anordnung. Auf Milchagarplatten (Nährböden nach Reinsch) treten rundliche, flache Kolonieen auf, ohne besondere Wachstumsform, auf Kartoffeln ein weißgelber feuchter Belag. Die Gelatinestichkultur wird rasch zu einem tiefen bis zum Boden des Röhrchens reichenden Verflüssigungstrichter, der sich oben bald bis an die Wandung des Röhrchens verbreitet und eine tiefe, kugelige Verflüssigungsschale bildet, nach mehreren Tagen ist die ganze Gelatine verflüssigt. Die Strichkultur auf Agar bildet einen glänzenden, wachsartigen Belag mit später auftretender leichter Gelbfärbung. Die Bakterie selbst ist ein breites Stäbchen von gleicher bis doppelter Länge mit abgerundeten Enden, so daß die gleich breiten und langen Individuen beinahe kugelig aussehen. In Milch tritt bei mäßig warmer Temperatur, 20—25° C, innerhalb 24 Stunden Labkoagulation ein, die bald in kräftige Peptonisierung unter schwacher Gasentwickelung übergeht, so daß bei der etwa 10 Tage alten Kultur etwa noch $^1/_8$ des Volumens an Kaseïn am Boden des Röhrchens

sitzt. Die Milch wird dabei stark alkalisch, während sich doch ein eigentümlicher Buttersäure ähnlicher Geruch zeigt; nach 9 Tagen zeigt sich ein fauliger, käseartiger Geruch, der ganz an den im westlichen Holstein in der Wilstermarsch hergestellten Fettkäse erinnert. Dieser Käse wird ähnlich wie Goudakäse hergestellt, er ist nur etwas trockener wie dieser — durch stärkere Salzung und kräftigeres Pressen erzielt — und erhält etwa 6—8 Wochen nach seiner Verbringung in den Reifungsraum eine dicht anliegende Schweinsblase umgelegt, damit der Reifungsprozeß mehr anaërobiotisch vor sich geht, also mehr der Fäulniß sich zuneigt. Nach 8—10 Monaten ist der Käse reif und hat dann einen pikanten, merkwürdig fauligen, doch immerhin aromatischen Geruch und Geschmack.

Mit einer Milchkultur der beschriebenen Bakterie wurde Mitte November 1892 ein Käse nach Goudaart gemacht. Ende Januar 1893, also nach 2 $^1/_2$ Monaten, hatte der Käse gegenüber einem Kontrollkäse einen sehr bitteren und unangenehmen, fast ekelhaften Nachgeschmack. Ende April 1893 wurde der Käse wieder geprüft und er hatte nunmehr ganz unverkennbar den spezifischen Wilstermarschkäsegeschmack und -Geruch; namentlich der spezifische scharfe und faulige und dabei doch aromatische Käsegeruch trat hervor. Außerdem machte er, trotzdem er aus Centrifugenmagermilch gemacht war, den Eindruck eines etwa halbfetten Käses. Im Mai 1893 wurde der Versuch wiederholt und nach Zusatz einer Kultur ein holsteinischer Magerkäse gemacht. Dieser Käse schmeckte und roch wieder ganz wie Wilstermarschkäse, nur war er feiner im Geschmack und Aroma, weil diesmal weniger Kultur zugesetzt worden war. Die jedesmal nebenher von derselben Milch gefertigten Kontrollkäse aus nicht pasteurisierter Milch und nach dem entsprechenden Verfahren hergestellt, hatten den gewöhnlichen, den betreffenden Käsesorten eigentümlichen Geschmack.

Ebensolche Versuche mit anderen weitverbreiteten verflüssigenden Bakterienarten, z. B. Bac. subtilis und einigen anderen, deren Identität nicht jedesmal festgestellt worden ist, ergaben keine Resultate, d. h. es traten gegenüber den Kontrollkäsen keine Verschiedenheiten auf.

Dagegen hatte ich durch die Untersuchung einer Reihe von Proben „langer Wei", welche ich mir aus Holland kommen ließ, um festzustellen, ob der die sogenannte lange Wey erzeugende Streptococcus in allen Gegenden Hollands, wo diese Anwendung findet, derselbe Organismus sei, — was, nebenbei gesagt, der Fall ist — Gelegenheit, mehrere Bakterienarten kennen zu lernen, welche in Milch aromatische und käseartig-aromatische Produkte erzeugen (vgl. Jahresber. d. schl. holst. landw. Generalvereins über das Jahr 1891. p. 96). Der Einfachheit halber bezeichnete ich diese Bakterien mit Aromabakterie und gab ihnen fortlaufende Nummern.

Aromabakterie I. Die Kolonieen auf Molkenpeptongelatine verflüssigen ziemlich rasch und entwickeln auf dieser Kultur aromatischen Geruch. In Milch geimpft läßt die Bakterie dieselbe die ersten Tage unverändert, dann erfolgt labartige Gerinnung und schließlich Peptonisierung. Die älteren Milchkulturen besitzen ange-

nehmen käseartigen Geruch, die jüngeren Kulturen zeigen ebenfalls schon schwaches Aroma. Die Stichkultur in Molkenpeptongelatine verflüssigt an der Oberfläche, während das Wachstum im Stichkanal nach unten sehr rasch aufhört. Die Bakterie ist also ausgesprochen aërobiotisch. Leider sind weitere Versuche nicht mit ihr angestellt.

Aromabakterie II. Die Kulturen einer Probe langer Wey besitzen kräftigen obstartigen Geruch. Sie enthalten eine schleimige und fadenziehende milchweiße Köpfchen bildende Bakterie, welche Milch fadenziehend macht und in Gärung versetzt, ferner flache bläuliche weiße Auflagerungen von etwa 1 mm Durchmesser und nicht ganz rundlicher Form. Diese sitzen anfangs auf der Gelatine, senken sich aber allmählich in diese. In Milch nicht sehr kräftiger aromatischer Geruch. Auch diese Bakterie ist nicht weiter studiert. — Die Unterlassung wiederholter Umzüchtung läßt es mir angesichts der nachfolgenden Beobachtungen als unsicher erscheinen, ob wir es bei den beiden genannten Bakterienarten nicht mit Symbiosen von zwei oder mehreren Bakterienarten zu thun haben. Es ist mir schon häufig aufgefallen, daß Wachstumsformen, welche man bei 1—2-maligem Umzüchten für konstant gehalten hat, sich bei weiterem Fortzüchten in mehrere manchmal allerdings wenig verschiedene Formen auflösen und daß dann auch gleichzeitig die charakteristischen Wirkungen mehr oder minder verloren gehen.

So erhielt ich aus einer anderen Probe langer Wey Kolonieen, welche in Milch einen schönen aromatischen, käseartigen Geruch erzeugten, ganz erinnernd an den Geruch von Edamerkäse. Eine Analyse der labartig geronnenen und teilweise peptonisierten Milch ergab zwei verschiedene Formen, 1) eine verflüssigende, 2) eine blaßblaue Auflagerung, wobei die Kultur angenehm obstartiges Aroma besaß. Jede der Kulturen für sich ergab keine der genannten Wirkungen, diese müssen also eine durch Symbiose oder Metabiose erzeugte Folge sein. —

In derselben Weise wurden aus noch zwei anderen Proben langer Wey (sämtlich aus Holland) Kolonieen herausgefunden, welche entweder aromatische Stoffe allein oder auch käseartige aromatische Stoffwechselprodukte zugleich produzierten und welche bei genauer Analyse sich als durch zwei Bakterienarten gebildet erwiesen, welche für sich wieder die charakteristische Wirkung nicht mehr oder nur in geringem Grade zeigten.

Leider sind mir alle diese Kulturen aus Mangel an Hilfe und Zeit zu Grunde gegangen, so daß es unmöglich ist, nochmals Versuche damit zu machen.

Namentlich wäre es notwendig gewesen, die Folgen einer gleichzeitigen oder aufeinanderfolgenden Impfung der betreffenden Bakterien in Milch zu studieren. Ich vermute namentlich, daß bei gleichzeitiger Anwesenheit von obligaten Milchsäurebakterien oder von Milchsäure selbst die oben beschriebenen Wirkungen aufgetreten wären.

Ferner möge noch folgende Beobachtung Platz finden, deren Aufklärung mich schon seit einigen Jahren, zeitweise wenigstens, beschäftigt (vgl. Jahresber. der milchw. und bakt. Abtlg. der landw.

Versuchsstation Kiel 1892/93 und 1893/94) und welche auch heute noch nicht zu voller Befriedigung gelöst werden konnte. Es ist dies vielleicht dieselbe Erscheinung, von der v. Freudenreich in seiner oben citierten Veröffentlichung Mitteilung macht, und vielleicht dieselbe, die schon von mehreren Milchbakteriologen u. a. auch von Flügge mitgeteilt worden ist. Es ist das nämlich die Erscheinung, daß nicht selten unvollkommen sterilisierte Milch nach einiger Zeit meist unter starkem Gasdruck einen intensiven Geruch nach überreifem Limburgerkäse annimmt. v. Freudenreich bezeichnet die aus solcher Milch gewonnene Bakterie, welche auch den spezifischen Geruch verursacht, als Clostridium foetidum lactis. Flügge beschreibt unter anaërobe Bakterie IV vielleicht denselben Bacillus.

Nachdem ich dieselbe Beobachtung mehrmals gemacht hatte, versuchte ich ebenfalls die den eigenartigen Geruch verursachende Bakterie zu züchten, erhielt aber außer Milchsäurebakterien und Hefen zunächst keine als die Ursache anzusehende Bakterie. Die Anwendung von Milchzuckeragar und gleichzeitig anaërobe Züchtung bei Brüttemperatur führte dann aber zu anscheinend günstigem Resultat, denn wir erhielten innerhalb 24 Stunden eine Bakterie, welche mittelst eines starken Oberflächenwachstums und einer später erkannten starken Neigung zur Deckenbildung die ganzen Platten bedeckte. Diese Bakterienart (zunächst a genannt) in Milch gegeben, rief wieder den Gestank hervor, die Umzüchtung aber mehrere Male fortgesesetzt zeigte, daß sie nicht die Ursache des starken Käsegeruches war, daß vielmehr mit ihr zusammen eine andere bis dahin noch nicht zum Wachstum gebrachte Bakterie die Bakterie a verunreinigt haben mußte und daß diese letztere, sagen wir b, diejenige sein müsse, welche den Geruch verursachte, oder daß vielleicht beide zusammen die Ursache desselben sein möchten.

Unsere fortgesetzten fruchtlosen Bemühungen auch der Bakterie b habhaft zu werden, führte uns sodann dazu, von Kulturen auf festem Nährboden ganz abzusehen und eine Trennung der beiden Bakterien in flüssigen Nährmedien zu versuchen, wozu zwei Wege eingeschlagen wurden. Der eine ist der, daß wir fortgesetzt aufeinander folgende Milchkulturen herstellen, indem wir nach Auftreten des charakteristischen Geruches das Bakteriengemisch auf ein neues Milchröhrchen überimpfen, hoffend auf diese Weise eine allmähliche Anreicherung der Bakterie b zu erlangen. Der zweite Weg ist der, daß wir Kulturen der Bakterie a, nachdem deren Stoffwechelprodukte in der Milch gebildet sind, sterilisieren und auf diesen Nährboden das Bakteriengemisch bringen, annehmend, daß dieser Nährboden für das Wachstum der Bakterie a weniger günstig, dagegen für Bakterie b um so günstiger sei, daß also die beiden Bakterien in metabiotischem Verhältnisse ständen. Der letztere Weg scheint nunmehr zum Ziele führen zu sollen, da wir jetzt bereits die Bakterie b in reinerer Kultur besitzen.

Ein Versuch, sie von diesen Kulturen aus auf einem festen Nährboden zum Wachsen zu bringen, ist wiederum mißglückt, da Milchzuckeragar und ein von uns gefundener neuer, für Milchbakterien

und speziell für Milchsäurebakterien sehr günstiger Nährboden, Kaseïn-Natron-Milchzuckeragar sowohl bei aërober, wie anaërober Züchtung ohne sichtbare Wachstumsförderung blieben. Selbst ein durch Zusatz von Agar zu dem sterilisierten Serum der Milchkultur a hergestellter Nährboden, also selbst der sonst günstige und nur durch Zusatz von Agar in einen festen verwandelten Nährboden brachte den gewünschten Erfolg nicht. Daß es sich nicht um einen etwa nur vermuteten, sondern um einen wirklich vorhandenen Organismus handelt, erweisen die zahlreich angelegten Färbepräparate sowie die Thatsache, daß die Bakterie a für sich nicht im Stande ist, den starken Käse- oder Fäulnisgeruch in Milch hervorzurufen. Diese zeigt vielmehr zunächst eine labähnliche Wirkung und peptonisiert darauf die ausgeschiedene Käsemasse in mäßigem Grade, während eine nachträgliche Aufimpfung der Bakterie b in Mischkultur eine fast völlige Auflösung der Käsemasse herbeiführt. Eine nähere Beschreibung der Bakterie a und hoffentlich auch der b behalte ich mir vor, es sei hier zunächst nur erwähnt, daß die a sehr häufig in Milch vorkommt und vielleicht mit dem Kot in dieselbe gelangt.

Wenn wir nun die oben mitgeteilten Versuche und Beobachtungen nochmals überschauen, so haben wir zwei Bakterienarten, welche einem Käse, einerlei auf welche Weise er hergestellt ist, den Geschmack und Geruch einer fremden Käsesorte zu verleihen vermögen. Beide Bakterienarten verflüssigen die Gelatine und peptonisieren die Käsemasse bzgl. das Kaseïn der Milch direkt. Da sie Milchbewohner sind und in den Käsen, die mit ihrer Hilfe hergestellt wurden, nicht zu Grunde gingen, sondern in ihnen die bekannte spezifische Wirkung hervorriefen, so müssen sie wohl als Käsebakterien, d. h. als Bakterien, die bei der Käsereifung mitwirken, angesehen werden. Auch die Bakterien a und b, welche zusammen — oder b allein — den stark fauligen Limburgerkäsegeruch verursachen, möchte ich mit hierher ziehen, da sie sehr häufige Milchbewohner zu sein scheinen. Die bei den Untersuchungen der langen Wey gefundenen Bakteriengemische enthielten meist auch eine wenn nicht verflüssigende, so doch peptonisierende Bakterie, die wohl ebenfalls zu der Reifung mit beigetragen haben wird. (Schluß folgt.)

Der Schluß der Abhandlung „Burri und Stutzer, Zur Frage der Nitrifikation im Erdboden“ wird in No. 6/7 erscheinen, da die Tafel nicht rechtzeitig fertig werden konnte.

Referate.

Benecke, Wilhelm, Die zur Ernährung der Schimmelpilze notwendigen Metalle. (Jahrbücher f. wissenschaftliche Botanik. Bd. XXVIII. 1895. Heft 3. p. 487—530.)

1858 und 1860 veröffentlichte Pasteur Arbeiten über die Kultur von Sproß- und Schimmelpilzen in Nährlösungen; sie bildeten den Ausgang zahlreicher Abhandlungen, wenn auch die Mineralbestandteile bei diesen im großen und ganzen sehr vernachlässigt wurden.

Verf. versuchte nun die Frage zu lösen, welche Elemente, in Sonderheit, welche Metalle sind überhaupt für den Chemismus des Pilzes unentbehrlich, welche insofern entbehrlich, als sie sich durch andere verwandte ersetzen lassen? Benecke macht uns mit den allgemeinen Resultaten seiner Untersuchungen gleich im Anfange der Arbeit bekannt und bringt dann in einem speziellen Teile die allgemeinen Kulturmethoden und die eingehende Besprechung der einzelnen Metalle, Kalium, Magnesium, Eisen, nebst Litteraturbelegen.

Die häufigste Versuchspflanze war Aspergillus niger v. Th., daneben wurden Formen von Penicillium und Mucor zum Vergleich herangezogen, so daß die Resultate über das Bedürfnis an Metallen wohl für alle Schimmelpilze in den verschiedensten künstlichen Nährlösungen Geltung beanspruchen dürfen. Es wurde, um vergleichbare Resultate zu gewinnen, das Trockengewicht bestimmt und der makroskopische Anblick der Kulturen berücksichtigt. Die Entwickelung von Konidie zu Konidie bezw. Spore zu Spore war das maßgebende; die mikroskopische Untersuchung trat vorläufig in den Hintergrund.

Von Alkalimetallen ist die Gegenwart des Kaliums schlechterdings notwendig; ohne dieses Metall tritt keine, oder richtiger nur spurenweise Keimung ein. Natrium und Lithium sind schlechterdings untauglich, auch von einer teilweisen Vertretbarkeit des Kaliums durch sie ist nichts zu bemerken. Dem Rubidium ist insofern eine besondere Stellung zu vindizieren, als es zwar das Kalium nicht ganz, wohl aber zum Teil vertreten kann, insofern es Mycelbildung, aber keine Sporenbildung erlaubt; ob diese Wirkung des Rubidiums nur im Verein mit den geringeren Kaliumspuren, von denen eine vollkommene Nährlösung nicht gänzlich zu befreien ist, zu stande kommt, was Verf. wahrscheinlich dünkt, ist fraglich; betreffs der Erntegewichte der Rubidiumkulturen im Vergleiche mit den Kaliumkulturen sind die speziellen Ausführungen zu vergleichen.

Hier sei kurz erwähnt, daß das Rubidium bald dem Kalium unterlegen, bald ebenbürtig, in gewissen Nährlösungen sogar etwas überlegen ist, letzteres jedoch aller Wahrscheinlichkeit nur dann, wenn noch Kaliumspuren die Nährlösung verunreinigen. Unter allen Umständen aber blieben die Rubidiumdecken steril. Caesium schließt sich dem Rubidium an.

Von Erdmetallen ist die Gegenwart des Magnesiums unter allen

Umständen erforderlich. Es kann durch kein anderes Element vertreten werden. Für das Eisen suchte neuerdings Molisch die Notwendigkeit für niedere Pilze zu erweisen; Verf. schließt sich den Ausführungen dieses Autors vor der Hand an.

Am Schlusse werfen wir noch einen kurzen Blick auf die Metalloide der Pflanzenasche. Bezüglich dieser weisen bekanntlich alle Pflanzen das Gemeinsame auf, daß sie des Schwefels und des Phosphors bedürfen. Was speziell Pilzkulturen anlangt, so wurde der Einfluß eines wechselnden Phosphorgehaltes auf die Gärung u. a. auch von Loew untersucht. Dies Element ist übrigens, wie ein eigener Versuch ergab, leicht auszuschließen. Verf. glaubt auch, daß Unterschiede in mineralhaltigen und mineralsauren Lösungen in solchen Studien, in denen keine absolut reinen Stoffe zur Verwendung kamen, in erster Linie auf den Phosphorgehalt bez. -Mangel beruhten, während K, Mg, Fe und S wohl häufig selbst dann, wenn sie nicht hinzugefügt werden, in hinreichender Menge als Verunreinigungen der Kohlenstoffquelle u. s. w. vorhanden waren.

Interessanter wäre wohl noch, Kulturen mit verschiedenem Schwefelgehalt zu untersuchen. Bekanntlich ist der Ausschluß dieses Metalles noch nicht gelungen. Ad. Mayer und Loew versuchten zum Beispiel den Ausschluß des Schwefels vergeblich.

Exakte Versuche über die Vertretbarkeit verwandter Metalloide untereinander liegen kaum vor. Vielleicht würde es sich lohnen zu untersuchen, ob Sulfate durch Selenate ersetzt werden können.

Die einzigste Schwierigkeit der Arbeit bestand in der Fürsorge, daß man Nährlösungen von wirklich ganz genau bekannter Zusammensetzung herstellte und ausschloß, daß während der Kulturdauer irgend welche Verunreinigungen sich von außen einschmuggelten. Als wesentlichste Fehlerquellen waren zu betrachten: Lösung von Substanz aus der Wand der Kulturgefäße; Verunreinigungen der als Nahrungsquellen angewandten Stoffe, einschließlich des Wassers; Eindringen von Schmutz, Staub etc. von außen. Gasförmige Stoffe vermochten durch den Watteverschluß wohl einzudringen, doch käme als Nährstoff höchstens das Ammoniak in Betracht; einzeln besprochen werden dann die Kulturgefäße, die Nährsubstanzen, die allgemeinen Kulturbedingungen, dem sich die Alkalimetalle von S. 499—519 anschließen, worauf die Erdmetalle einsetzen.

Die Abhandlungen von Wehmer in den Berichten der deutschen Botanischen Gesellschaft kamen Verf. erst nach Abschluß des Manuskriptes zu Gesicht. E. Roth (Halle a. S.).

Répin, Sur l'absorption de l'abrine par les muqueuses. (Ann. de l'Inst. Pasteur. Bd. IX. Heft 6. 1895.)

Ehrlich fand, daß 0,1 mgr Abrin zur Tötung eines Meerschweinchens bei Injektion genügte und wohl 10 mgr nötig waren, um dasselbe per os zu erreichen.

Verf. fand, daß Abrin sehr wenig dialysiert. Er gebrauchte kein käufliches Abrin, sondern die Samen der Jéquirity, welche er zermalmte.

Verf. brachte Abrin zusammen mit Speichel, Magensaft, Pankreassaft, Galle und Eingeweidesaft (10 Proz.). Säuren ändern Abrin und drücken die toxischen Eigenschaften herab. Alle diese Säfte waren ohne Einfluß. Auch die Schleimhäute waren fast ohne Wirkung.

Verf. glaubt also, daß diese Wirkungslosigkeit die Ursache ist, daß Tiere so große Quantitäten Abrin per os ertragen können.

van't Hoff (Kralingen).

Dastre, A., Löslichkeit und Wirksamkeit der löslichen Enzyme in alkoholischen Flüssigkeiten. (Compt. rend. Bd. CXXI. No. 24. p. 899.)

Ueber die Löslichkeit der Enzyme in Alkohol herrschen noch gewisse Widersprüche, die Verf. durch seine Versuche aufklären will. Zunächst stellte derselbe fest, daß alle Verdauungsfermente, sowie die Blutfermente in 95-proz. Alkohol unlöslich sind, wenn man die das Ferment enthaltenden Organe im getrockneten Zustande mit dem Alkohol behandelt. Dagegen verhält sich die Löslichkeit der Enzyme anders, wenn man diese in Wasser aufnimmt und die wässerige Lösung mit Alkohol versetzt oder die Organe direkt mit wässerigem Alkohol behandelt.

Vom Trypsin lösten sich gewisse Mengen in alkoholischen Flüssigkeiten bis zu 55 Proz. Alkoholgehalt noch auf, die Löslichkeit ist noch sehr beträchtlich bei einem zwischen 10—25 Proz. liegenden Alkoholgehalte, sie vermindert sich alsdann schnell, ist aber noch vorhanden, wenn die Flüssigkeit 50 Proz. Alkohol enthält.

Das stärkelösende Enzym des Pankreas ist noch viel leichter löslich; 65-proz. Alkohol nimmt davon noch auf.

Dagegen sind die Enzyme des Blutes wenig löslich in alkoholhaltigem Wasser, man darf hier über 4—5 Proz. Alkoholgehalt nicht hinausgehen. Die Enzyme, nach ihrer Löslichkeit geordnet, würden folgende Reihe geben: diastatisches und proteolytisches Ferment des Blutes, Emulsin (Bouchardat), Ptyalin (Losch, de Jager, Kjeldahl), Trypsin, Pepsin, das Enzym des Gaulterin (Schneegans und Geroch), das amylolytische Enzym des Pankreas und Myrosin, als das leicht löslichste.

Verfasser stellte ferner noch fest, daß zwar die aufgeführten Enzyme bei Gegenwart von Alkohol wirksam bleiben, daß es aber nicht empfehlenswert ist, fermentative Vorgänge in alkoholischen Flüssigkeiten vorzunehmen, denn einmal seien die zu zersetzenden Stoffe oft unlöslich in derartigen Medien, wodurch manche Fermente in ihrer Wirksamkeit beeinträchtigt sind, und dann hemme auch die wasserentziehende Kraft des Alkohols die hydrolytischen Wirkungen des Fermentes. Trotzdem hat Verf. tryptische Verdauungen noch bei einem Alkoholgehalte von 15 Proz., amylolytische bei einem solchen bis 20 Proz. vor sich gehen sehen. Referent glaubt, daß mäßige Mengen von Alkohol für gewisse Fälle als fäulnisunterdrückender Zusatz den bisher gebräuchlichen Präparaten, wie Chloroform, Thymol, Aether vorzuziehen sein werden.

Proskauer (Berlin).

Dangeard, P. A., Mémoire sur les parasites du noyau et du protoplasma. (Le Botaniste. Ser. 4. Fasc. 6. 1895. p. 199. Mit Textfig.)

Die verschiedenen Untersucher der Amöben weichen in ihren Angaben über die Kernverhältnisse dieser Organismen nicht unwesentlich von einander ab. Namentlich blieben unerklärt eigentümliche Teilungsstadien des Kerns. Verf. glaubt nun diese sich widersprechenden Ansichten mit einander vereinigen zu können, indem er nachweist, daß die Kerne der Amöben häufig von einem Parasiten befallen werden, welcher das abweichende Aussehen bedingt.

Es treten im Kerne zuerst ein oder mehrere helle Flecken auf, die sich vergrößern und schließlich nach Resorption der Kernsubstanz den ganzen Raum innerhalb der Kernmembran ausfüllen. Dann entstehen durch oftmalige Teilung viele kleine Zellen, der Parasit wird also zum Sporangium. Jede Spore ist von einer dünnen Membran umhüllt und mit einem kleinen Kerne versehen. Verf. nimmt an, daß die Sporen ausschwärmen; beobachtet hat er dieses Stadium allerdings nicht. Der neue Organismus wird Nucleophaga amoebae genannt. Seine Stellung im System findet er bei den niedersten Chytridiaceen neben Sphaerita.

Hieran knüpft nun Verf. allgemeine Bemerkungen, von denen eine bereits hervorgehoben wurde, daß nämlich die verschiedenen Ansichten über die Struktur des Kerns bei den Amöben und Rhizopoden sich jetzt, nachdem die Entwickelung der Nucleophaga bekannt ist, vereinigen lassen. Ferner glaubt Verf., daß für das Studium der Lebensverhältnisse der Amöben der Parasit eine gewisse Bedeutung erlangen könnte. Während man bisher, um Kern und Plasma in ihrer gegenseitigen Abhängigkeit zu studieren, Stücke des Plasmas abtrennte (Merotomie) und mit diesen experimentierte, braucht man jetzt bloß den Kern mit dem Parasiten zu infizieren, um ihn zu eliminieren. Es ist möglich, daß diese Methode einen Schritt weiter führt. Endlich weist Verf. auch darauf hin, daß viele Zellkrankheiten höherer Tiere (z. B. Krebs) durch ähnliche Organismen hervorgerufen werden könnten.

Im 2. Teil der Arbeit beschreibt Verf. 2 Plasmaparasiten von Euglena viridis. Hiervon ist Sphaerita endogena bereits früher von ihm beschrieben worden. Nach reichlicherem Material können aber dem damals gegebenen Entwickelungsgange wesentliche Ergänzungen hinzugefügt werden. Einen zweiten Organismus beschreibt er in Olpidium Euglenae. Die Zahl der Euglenaparasiten wird dadurch auf 4 gebracht: Polyphagus Euglenae, Chytridium Euglenae, Sphaerita endogena und Olpidium Euglenae. Lindau (Berlin).

Sadebeck, R., Einige neue Beobachtungen und kritische Bemerkungen über die Exoascaceae. (Berichte d. Deutsch. Botanischen Gesellsch. XIII. 1895. p. 265—280 und Taf. XXI.)

Der bisher in die Gattung Taphrina gestellte Parasit, welcher die Deformationen der Fruchtknoten an den weiblichen Kätzchen der Zitterpappel bewirkt, muß seiner Entwickelungsgeschichte nach

als Exoascus Johansonii Sad. bezeichnet werden. Das Mycel überwintert in den Knospen, breitet sich mit der Enfaltung derselben aus und verzweigt sich in den Fruchtknoten unter der äußeren Cuticula reichlich. Die Zellen derselben schwellen sodann an, und das Mycel zerfällt darauf, ohne sich weiter in einen sterilen und fertilen Teil zu differenzieren, in die ascogenen Zellen. Schon ehe sich dieselben nach außen vorwölben, entsenden sie zwischen die Zellen der Epidermis und des Assimilationsgewebes lange ungeteilte Senker; dann erst entstehen die Asken, welche die Cuticula durchbrechen.

Der Einfluß, welchen der Parasit auf die Gewebe der Wirtspflanze ausübt, besteht in einer Vermehrung und beträchtlichen Vergrößerung der Zellen des Assimilationsgewebes. Besonders sind die Zellen der zweiten Schicht desselben, die Palissadenzellen, um das 4—6-fache senkrecht zur Fruchtknotenoberfläche gestreckt und durch 3—4 dünne, parallele Scheidewände geteilt. Auch die Zellen des Blattparenchyms sind angeschwollen und zuweilen mit einer Teilungswand versehen. In der äußeren Epidermis sind die Zellen etwas unregelmäßig vergrößert, und die Ausbildung der Spaltöffnungen ist unterblieben.

Die Ascosporen des Pilzes kannte man bisher nicht. In den Asken sind nur die durch hefeartige Sprossung aus den Ascosporen hervorgehenden Konidien beobachtet worden. Bringt man aber bei anhaltend trockenem, warmem Wetter die goldgelben Kätzchen sofort an Ort und Stelle in Fixierungsflüssigkeiten, so findet man die kugeligen Ascosporen, während bei Feuchtigkeit alsbald die Konidien entstehen. Es ist daher unhaltber, diese Sproßbildung innerhalb der Schläuche zur Abgrenzung einer Gattung zu benutzen, wie es Schröter bei der Bearbeitung der Pilze in den natürlichen Pflanzenfamilien von Engler-Prantl gethan hat. Solche Konidienbildung kann unter gewissen Umständen in den Asken aller Exoasceen-Arten vor sich gehen.

Zu den bisher beschriebenen Arten kommen noch Taphrina virginica Seymour et Sad. auf Ostrya virginica in Nordamerika und Magnusiella fasciculata Lagerheim et Sad. auf Nephrodium spec. in Quito hinzu, so daß jetzt 30 Exoascus-, 13 Taphrina- und 5 Magnusiella-Arten dieser interessanten parasitischen Pilzgruppe bekannt sind, welche vom Verf. am Schlusse übersichtlich zusammengestellt werden. Brick (Hamburg).

Take, Immendorf, Hessenland, Schütte und **Minssen**, Ueber das Verhalten der Bakterien der Leguminosenknöllchen gegen Aetzkalk. (Mitteilungen d. Ver. z. Förderung der Moorkultur im Deutschen Reiche. 1895. XIII. p. 389—399.)

An Mitteilungen Salfeld's in der Deutschen landwirtschaftlichen Presse, denen zufolge auf leichtem, trockenem Diluvialsande durch Düngung mit Aetzkalk die im Boden vorhandenen oder demselben in Form von Impferde zugeführten Knöllchenbakterien vernichtet wurden, so daß die Knöllchenbildung an den Wurzeln der angebauten Erbsen und anderer Leguminosen vollständig unterblieb und diese Pflanzen nur kümmerlich wuchsen, während die unter im

übrigen genau denselben Bedingungen angebauten, jedoch mit Mergel versehenen Hülsenfrüchte freudig gediehen, schloß sich in den Spalten der genannten Zeitung ein lebhafter Meinungsaustausch, der zur Sache selbst jedoch keine wesentliche Aufklärung lieferte. — Bei der großen Wichtigkeit dieser Frage sind an der Moorversuchsstation zu Bremen im Jahre 1895 mit Boden, der unmittelbar aus der Ackerkrume eines Feldes neben dem betreffenden Salfeld'schen Versuchsfelde entnommen wurde, Vegetationsversuche angestellt worden.

Der Boden wurde unter Beigabe von Thomasschlacke und Chlorkalium in 4 gleich große Versuchsgefäße eingefüllt und bei zweien der Gefäße durch innige Vermengung mit je 25 g Erbsenerde geimpft. An gebranntem Kalk erhielten je ein geimpftes und ein ungeimpftes Gefäß 15 g, entsprechend ca. 3000 kg pro ha, d. i. die Hälfte mehr als bei dem Versuche Salfeld's. Gleichzeitig mit dem Versuch auf Sandboden gelangte ein solcher unter sonst gleichen Verhältnissen auf Hochmoorboden zur Ausführung, der in einigen Gefäßen Kalk in einer 4000 kg pro ha entsprechenden Menge erhielt; außerdem wurden zwei Gefaße mit Uelzener Mergel gedüngt, der vorher sterilisiert worden war.

3 Tage nach der gleichzeitig vorgenommenen Düngung und Impfung erfolgte das Bepflanzen der Gefäße mit kleinen grünen Felderbsen.

Aus den Ergebnissen der Versuche auf Sandboden ging mit Bestimmtheit hervor, daß die verwendete, auch für den Versuch auf Moorboden benützte Impferde wirksame Knöllchenbakterien enthielt, da nur die geimpften Pflanzen Knöllchen entwickelten. Das wichtigste Versuchsresultat war aber, wie Verff. durch genaue Mitteilungen über den Verlauf des Versuches und die gewonnenen Ernteziffern, sowie durch photographische Abbildungen der Versuchspflanzen des Näheren erläutern, „daß durch den Aetzkalk in der angegebenen Menge unter Umständen, die absichtlich so gewählt waren, daß eine Schädigung der Knöllchenbakterien hätte leicht hervorgerufen werden können, nicht nur nicht eine Vernichtung derselben eingetreten, sondern daß im Gegenteil durch die Aetzkalkdüngung die Entwickelung der Knöllchenbakterien mit derjenigen der ganzen Pflanze erheblich gefördert wurde". Die Wirkung der Kalkzufuhr für sich allein, ohne Impfung, war, wenn auch nicht sehr groß, so doch deutlich.

Die Versuche auf Moorboden ergaben in Uebereinstimmung mit vielen früheren Versuchen der Moorversuchsstation, daß ein Anbau von Leguminosen auf Hochmoor ohne Zufuhr von Kalk oder Mergel vollkommen ausgeschlossen ist. Leider gelang es hier nicht, in den ungeimpft gebliebenen Gefäßen die Pflanzen knöllchenfrei zu erhalten, trotzdem verschiedene Gründe dafür sprechen, daß die Bakterien nicht im Moorboden selbst enthalten waren. Es ließ sich infolge dessen bestimmte Aufklärung darüber, ob der Mergel an sich wesentlich besser als der Kalk wirke, nicht gewinnen. Bezüglich der eigentlichen Versuchsfrage lieferte aber auch dieser Versuch ebensowenig wie jener auf Sandboden Anhaltspunkte, welche die vernichtende Wirkung des gebrannten Kalkes auf die Leguminosenbakterien

bei dem Feldversuche Salfeld's bestätigen könnten. Selbst bei einem Feuchtigkeitsgehalt des Bodens, der sich dem zulässigen Minimum näherte, konnte keine Schädigung der knöllchenbildenden Bakterien festgestellt werden bei Anwendung einer Kalkmenge, die dem dreifachen jener Menge entsprach, welche beim Feldversuch schädlich gewirkt hatte.

Eine Ursache, die auf den mit gebranntem Kalk versehenen Parzellen beim Feldversuch die Schädigung der Knöllchenbakterien herbeigeführt haben könnte, läßt sich nach diesen Ergebnissen demnach nicht einmal vermutungsweise angeben.

L. Hiltner (Tharand).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Steuber, L., Ueber die desinfizierende Wirkung von gelöschtem Kalk auf Hefe. [Mitteilungen der wissenschaftl. Station für Brauerei in München.] (Zeitschr. gesamt. Brauw. 1896. No. 4. p. 41.)

Eines der ersten und bis zum letzten Jahrzehnt fast ausschließlich in den Brauereien gebrauchten Desinfektionsmittel dürfte wohl der gelöschte Kalk sein, welcher zur Reinigung von Malztennen, Gär- und Lagerkellern, Gärbottichen und anderen Gerätschaften verwendet wird, ohne daß man sich jedoch bis jetzt über die Grenzen seiner Wirkung völlig klar war.

Der Kalk wird auch in ausgedehntem Maße zur Unschädlichmachung von Brauereiabwässern benutzt. Hier handelt es sich in erster Linie um Vernichtung und Hintanhaltung von Fäulnisbakterien und liegen über die diesbezügliche Wirkung des Kalkes schon verschiedene Versuche vor. Ueber die Wirksamkeit desselben gegenüber Schimmelpilzen hat Braumeister Maus einige Angaben gemacht. Wie derselbe jedoch auf Hefe — echte, sporenbildende — wirkt, darüber waren bis jetzt Untersuchungen nicht angestellt worden.

Die Versuche des Verf. wurden in der Weise ausgeführt, daß 0,5 g abfiltrierte Reinhefe (Bierhefe) in einem sterilen Reagensglas mit 10 ccm Kalkmilch von verschiedener Stärke übergossen und verschiedene Zeit lang tüchtig durchgeschüttelt wurde. Der Kalkhefebrei wurde sodann in Würze gegeben, welche mit entsprechenden Mengen Milchsäure angesäuert war, um den Kalk unwirksam zu machen. Bei Anwendung von Milchsäure war nicht zu befürchten, daß die geschwächte Hefe durch die zugesetzte Säure ungünstig beeinflußt wurde, so lange sich ein allenfallsiger Milchsäureüberschuß der Würzen innerhalb mäßiger Grenzen bewegte.

In der ersten Versuchsreihe enthielt die Kalkmilch 11—43 Proz. Kalkhydrat. Bei einer Einwirkungsdauer von 10 Minuten bis 2 Stunden

war in sämtlichen Versuchen binnen kurzer Zeit Hefeentwickelung und Gärung wahrnehmbar. Die nach der Einwirkung des Kalkes entwickelte Hefe stimmte nach der Sporenbildung mit der verwendeten Reinkultur überein. Bei längerer Einwirkung, wenn der Kalkhefebrei in Würze von 0,13 Proz. Acidität, also ohne Milchsäurezusatz, gebracht wurde, erfolgte in der alkalisch gewordenen Würze die Abtötung der Hefe.

Bei einer weiteren Reihe von Untersuchungen war Verf. bestrebt, die Versuchsanordnung den Verhältnissen der Praxis annähernd gleich zu gestalten, indem er auf eine Gipsplatte und ein abgehobeltes Brett verschieden dicke Lagen von Hefe (Reinkultur) und nach dem Trocknen derselben einen, soweit das überhaupt möglich war, gleichmäßig dicken Anstrich von Kalk (1 Teil gelöschter Kalk und 1 Teil Wasser) auftrug. Nach dem Trocknen des Kalkanstriches wurden von Zeit zu Zeit mittels eines Spatels oder kleiner Blechstückchen Teile der ganzen aufgetragenen Schichte, enthaltend Hefe und Kalk, und zwar immer 1—1,5 g, in Bierwürze gebracht, deren Acidität bis gegen 2 Proz. Milchsäure erhöht worden war.

Die Einwirkungszeit betrug bis zu 9 Tagen. Aus den Versuchen ging hervor, daß bei geringer Verunreinigung einer Wand etc. mit Hefe durch einen verhältnismäßig starken Kalkanstrich die Abtötung der letzteren erreicht wird.

Wenn nun auch die vorliegenden Versuche noch nicht auf sporenhaltige Zellen ausgedehnt wurden, so läßt sich aus den Ergebnissen derselben doch schon schließen, daß der Aetzkalk gegenüber mäßigen Verunreinigungen mit Hefe als ein gutes Desinfektionsmittel wirkt; bei stärkerer Anhäufung von Hefe muß jedenfalls der Desinfektion mit Aetzkalk eine gründliche mechanische Reinigung vorangehen. Der Kalk muß selbstverständlich einige Zeit feucht bleiben, um als Aetzkalk wirken zu können.

Der gelöschte Kalk ist also für den Brauer nicht nur ein billiges, sondern auch innerhalb gewisser Grenzen wirkungsvolles, mit wenigen Kosten zu beschaffendes und die Arbeiter nicht belästigendes Desinfektionsmittel. H. Will (München).

Rumm, C., Zur Kenntnis der Giftwirkung der Bordeauxbrühe und ihrer Bestandteile auf *Spirogyra longata* und die Uredosporen von *Puccinia coronata*. [Vorläufige Mitteilung.] (Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft. XIII. 1895. p. 189—192.)

Die Giftwirkung der Bordeauxbrühe und ihrer einzelnen Bestandteile (Kupferhydroxyd, Gyps und Calciumhydroxyd) wurde in Ermangelung der Konidien von *Peronospora viticola* in ihrer Einwirkung auf die Uredosporen von *Puccinia coronata* und die äußerst empfindlichen Zellen von *Spirogyra longata* untersucht.

Gyps besitzt keine giftigen Eigenschaften, Calciumhydroxyd beeinflußt infolge nachweisbarer Aufnahme desselben durch die Algen nur dann ungünstig, wenn seine Lösung nicht unter die Konzentration 0,2 einer gesättigten Kalklösung (Kalk: Wasser = 1 : 3750)

heruntersinkt, und Kupferhydroxyd löst sich in Brunnen- oder Schneewasser nicht so viel als zu einer sichtbaren Erkrankung der Algen und zur Verhinderung der Keimung der Puccinia-Sporen nötig ist. Nur die festen Kupferhydroxydteilchen wirken in direkter Berührung mit diesen Organismen schädlich. In einer Mischung von Calcium- und Kupferhydroxyd kann sowohl durch Kalk als auch durch Kupferhydrat Tod der Algen eintreten.

In der frisch gefällten Bordeauxbrühe wird ein kleiner Teil des Kupfers in den ungelöschten Kalkfragmenten niedergeschlagen und dadurch auch der Kalk seiner Wirksamkeit teilweise beraubt. Bordeauxfiltrat wirkt nur nach Maßgabe des in ihm gelösten Aetzkalkes giftig, das gelöste Kupfer hat keinen nachweisbaren schädlichen Einfluß auf die Algen oder Puccinia-Sporen. Beim Austrocknen der Bordeauxbrüheflecken auf den bespritzten Blättern wird der basische Kalk durch die atmosphärische Kohlensäure neutralisiert. Das entstehende Kalciumcarbonat erhöht die Festigkeit und Beständigkeit der Flecken, während der Gyps dieselben vermindert; letzterer verbreitet aber wiederum bei seiner Auflösung durch Regen die Kupferteilchen auf den Blattoberflächen.

Die Nährpflanze selbst erhält ferner durch die Bordeauxbrühe wahrscheinlich auch eine gewisse Fähigkeit, resistenter gegen die Angriffe des Pilzes zu werden. Brick (Hamburg).

Girard, Aimé, Sur l'accumulation dans le sol des composés cuivriques employés pour combattre les maladies parasitaires des plantes. (Compt. rend. CXX. 1895. 1147—1152).

Verf. düngte eine Versuchsparcelle mit Kupfervitriol in der Menge von 1500 kg pro ha und bepflanzte sie und ebenso eine ungekupferte Vergleichsparcelle mit Weizen, Hafer, Rotklee, Rüben, Kartoffeln und Gemüsepflanzen. In Uebereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Forscher wurde durch die drei Jahre hintereinander fortgesetzten Versuche ermittelt, daß die Ernten durch diese außerordentlich große Gabe von Kupfer, welche ungefähr einer 100 Jahre lang fortgesetzten, normalen Besprengung mit Bordelaiser Brühe entspricht, nicht beeinträchtigt wurden und daß die Ernteprodukte Kupfer nur in nicht wägbaren Mengen enthielten.

L. Hiltner (Tharand).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Dr. Wilhelm Windisch.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Abbott, A. C., M. D., Principles of bacteriology: A practical manual for students and physicians. 3d ed. 12°. Philadelphia (Lea Bros & Co.) 1896. 2,50 $.

Bakteriengehalt des Getreides. (Dtsche landwirtschaftl. Presse. Jahrg. XXIII. 1896. No. 15. p. 121.)

Clautrian, G., Etude chimique du glycogène chez les champignons et les levures. (Mém. couronn. et autr. mém. publ. par l'Ac. royale de Belgique. Vol. LIII. 1895.)

Ducamp, A., Cours de microbiologie, professé à la faculté de médecine de Montpellier. Fasc. 1. 8°. 135 p. Montpellier 1895.

Duclaux, E., L'öevre industrielle de Pasteur. (Conférence faite à la Société d'encouragement pour l'Industrie nationale, le 27 décembre 1895. L'Acool et le ducre. Année IV. 1896. No. 7. p. 102.)

Gruber, M., Pasteur's Lebenswerk im Zusammenhange mit der gesamten Entwickelung der Mikrobiologie. (Wien. klin. Wochenschr. 1896. No. 47—49. p. 823—828, 844—848, 863—866.)

Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den pathogenen Mikroorganismen, umfassend Bakterien, Pilze und Protozoen. Unter Mitwirkung von Fachgenossen bearbeitet und herausgegeben von P. v. Baumgarten und F. Roloff. Jahrg. IX. 1893. 2. Abt. gr. 8°. 11 u. 551 p. Braunschweig (Harald Bruhn) 1896.

Jungfleisch, Louis Pasteur. (Journ. de pharmacie et de chimie. 1895. 15. Okt.)

Miyoshi, M., Anwendung japanischer Soja und deren Gemisch für Pilzkulturen. (The Botanical Magazine. Vol. IX. No. 104. Tokyo 1895.)

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Bennett, A. A. and **Pammel, E. E.**, A study of some gas-producing bacteria. (The Journal of the American chemical society. Vol. XVIII. 1896. No. 2. p. 157.)

Bourquelot, E. et **Hérissey H.**, Sur les propriétés de l'émulsine des champignons. (Compt. rend. T. CXXI. 1895. No. 26. p. 693—695.)

Dangeard, P. A., Mémoire sur les parasites, du noyau et du protoplasma. (Le Botaniste. sér. 4. Fasc. 6. 1896. p. 199. c. fig.)

Lesage, P., Recherches expérimentales sur la germination des spores du Penicillium glaucum. (Annales des sciences naturelles. Vol. I. 1896. No. 5/6.)

Mikroskopie.

Behrens, W., Mikroskoptisch mit Irisblende. (Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie. Bd. XII. 1896. p. 292.)

Cori, J., Ein Objektträger zur Beobachtung von Objekten, welche zwischen zwei Deckgläschen eingeschlossen sind. (Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie. Bd. XII. 1896. p. 300.)

Fairchild, D. G., Perforierte Porzellancylinder als Auswaschapparate. (Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie. Bd. XII. 1896. p. 301.)

Rhumbler, L., Zur Einbettung kleiner Objekte. (Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie. Bd. XII. 1896. p. 312.)

Schiemenz, R., Die neuen Zeichenoculare von Leitz. (Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie. Bd. XII. 1896. p. 289.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Bourquelot, E. et **Herissey, H.**, Arrêt de la fermentation alcoolique sous l'influence de substances sécrétées par une moisissure. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1895. p. 632.)

Brodmeier, A., Ueber die Beziehung des Proteus vulgaris Hsr. zur ammoniakalischen Harnstoffzersetzung. (Centralbl. f. Bakteriol. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XVIII. 1895. p. 380—389.)

Duclaux, E., Pouvoir ferment et activité d'une levure. (Annal. de l'Instit. Pasteur. Année X. 1896. No. 2. p. 119.)

Dyes, W. A., Ueber Reindarstellung der Gärungsmilchsäure mit einleitenden Versuchen über Destillation im Vacuum der Quecksilberluftpumpe. [Inaug.-Diss.] Heidelberg 1896.

Haury, A., Reinzuchthefe und die Hefenfrage. Vortrag, gehalten auf der Sitzung der Oesterr. Gesellschaft zur Förderung der chemischen Industrie am 25. Januar 1896.

Brauerei.

van Laer, Henri, L'avenir des levures de brasserie et les communications de Briant et Heron. (Le petit Journal du Brasseur. Vol. IV. 1896. No. 101. p. 57.)

Molkerei.

Hillmann, P., Beiträge zur Kenntnis des Einflusses des Labfermentes auf die Milcheiweißstoffe und zur Bewertung der Milch für Käsereizwecke. [Inaug.-Diss.] Leipzig 1895.

Preßhefefabrikation.

Loose, Gustav, Bierhefe als Maischmaterial bei der Hefenfabrikation nach altem Verfahren. (Alkohol. Jahrg. VI. 1896. No. 9. p. 129.)

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Stutzer, A., Eine Verbesserung bei den Vorrichtungen zur Herstellung sterilisierter Milch. (Hygien. Rundschau. Bd. V. 1895. p. 1120—1121.)

Luft, Wasser, Boden.

Dibdin, W. J., Die Filtration von Abwässern. (Journ. of the Chemical Industry. Bd. XIV. 1895. p. 915—922.)

— —, Mikroskopische Wasseruntersuchung. (The Analyst. Bd. XXI. 1896. p. 2—5.)

Flügge, C, Hygienische Beurteilung von Trink- und Nutzwasser. Vortrag, gehalten auf der 20. Versammlung des Deutschen Vereins für öffentliche Gesundheitspflege in Stuttgart. (Apotheker-Zeitung. Bd. X. 1895. p. 782.)

Jorge, Ricardo, Ueber einen neuen Wasservibrio. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XIX. 1896. No. 8. p. 277.)

Mason, W. P., Chemical and bacteriological examination of potable water. (The Journal of the American Chemical society. Vol. XVIII. 1896. No. 2. p. 166.)

Moroni, A., Ricerche batteriologiche sulle acque potabili di Parma. (Giorn. d. r. soc. ital. d'igiene. 1895. No. 7. p. 261—304.)

Pfuhl, E., Ueber die Verunreinigung der Grundwasserbrunnen von unten her. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXI. 1896. p. 1—10.)

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Bonnier, G., Recherches expérimentales sur la miellée. (Revue générale de Botanique. 1896. No. 85.)

— —, La miellée produite par les feuilles comparée à la miellée des Aphidiens. (Compt. rend. des séances de l'Académie des sciences à Paris. 1896. janv. 25.)

Burkill, H., Teratological Observations on Parnassia palustris L. (Journal of Botany British and foreign. 1896. No. 397.)

Dangeard, P. A., Mémoire sur les parasites du noyau et du protoplasma. (Le Botaniste. sér. IV. 1896. p. 199—248. Av. fig.)

Fautrey, F., Une nouvelle maladie du Solanum tuberosum, Entorrhiza Solani. (Rev. mycol. 1896. p. 11.)

Gabelli, Lucio, Sulla causa degli sdoppiamenti fogliari. (Malpighia. X. 1896. p. 67.)

Hartig, R., Ueber das Verhalten der vom Spanner entnadelten Kiefern im Sommer des Jahres 1895. (Forstl.-naturwissenschaftl. Zeitschr. Jahrg. V. 1896. Heft 2. p. 20.)

— —, Sphaerella Caricina auf Larix leptolepis (japonica). (Forstl.-naturwissenschaftl. Zeitschr. Jahrg. V. 1896. Heft 2. p. 74.)

Herzberg, Paul, Vergleichende Untersuchungen über landwirtschaftlich wichtige Flugbrandarten. 8°. 33 p. [Inaug.-Diss.] Halle-Wittenberg 1895.

Knauth, Das Auftreten des Kiefernspanners (Fidonia piniaria). (Forstl.-naturwissenschaftl. Zeitschr. Jahrg. V. 1896. Heft 2. p. 46. Mit 1 Abbildg.)

Neger, Die Rostkrankheit der blattwechselnden Buchen (Melampsora Fagi. Diet. et Neg.). (Forstl.-naturwissenschaftl. Zeitschr. Jahrg. V. 1896. Heft 2. p. 69.)

Noack, F., Neuere, in den östlichen Staaten Nord-Amerikas aufgetretene Pflanzenkrankheiten. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. V. 1895. p. 336.)

Pizzigoni, A., Concrena secca ed umida delle Patate. (Nouv. Giorn. Bot. Ital. 1896. p. 50.)

Plitzke, A., Ueber vergrünte und umgebildete Blüten der Herbstzeitlose in der Umgebung von Neutitschein. (Jahresbericht der Mährischen Oberrealschule Neutitschein pro 1894/95.) 8°. 3 p. 1 Tafel. Neutitschein 1895.

Potter, M. C., Note on some experiments on „Finger on Toe". (Sep.-Abdr. aus Journ. of the Newcastle Farmers Club. 1896.) 8°. 5 p.

Smith, Ralf E., A curious coincidence. (The Botanical Gazette. Vol. XXI. 1896. p. 35.)

Tubeuf, Insektenbeschädigungen an Fichtenhecken. (Forstl.-naturwissenschaftl. Zeitschr. Jahrg. V. 1896. Heft 2. p. 75.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Beyerinck, M. W., Kulturversuche mit Amöben auf festem Substrate. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XIX. 1896. No. 8. p. 257.)

Kaiser, W., Die Technik des modernen Mikroskops. Ein Leitfaden zur Benutzung moderner Mikroskope, mit besonderer Berücksichtigung der Untersuchungen aus dem Gebiete der Bakterioskopie. Mit einem Vorwort von H. Heger. Lex.-8°. Wien (Moritz Perles' Verlags-Comptoir) 1896. 4 M.

Miquel, P., Sur un procédé simple applicable à l'analyse bactériologique de l'air. (Annal. de micrographie. T. VII. 1895. p. 103.)

Tauffer, Ueber die Anwendung von Nucleïn-Nährböden. (Monatsh. f. prakt. Dermatologie. Bd. XXI. 1895. No. 10.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Couton et Gasser, Procédé de stérilisation et de régénération à froid des bougies Chamberland et des cruches. (Revue d'Hygiène. 1895. 17. April.)

Gayon, U., Etude sur les appareils de pasteurisation des vins. (Extrait de la Revue de Viticulture.) In-8°. 63 p. Av. fig. Paris (les Libraires associés) 1896.

Schepilewski, E. A., Formaldehyd als Desinfektionsmittel. (Journ. ochranenija narodnawo sdrawija. Bd. V. 1895. p. 1042.)

Scheurlen, Die Bedeutung des Molekularzustandes der wassergelösten Desinfektionsmittel für ihren Wirkungswert. (Arch. f. experiment. Pathol. u. Pharmakogn. Bd. XXXVII. 1896. p. 84—87.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) i. –

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.
Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.
In Verbindung mit
Prof. Dr. Adametz in Krakau, Prof. Dr M. W. Beyerinck in Delft, Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen, Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Bonn, Privatdocent Dr. Wehmer in Hannover, Dr. Weigmann in Kiel, Dr. Wilfarth in Bernburg und Dr. Winogradsky in St. Petersburg
herausgegeben von
Dr. O. Uhlworm in Cassel.
Verlag von Gustav Fischer in Jena.
II. Band. Jena, den 15. April 1896. No. 6/7.
Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Original-Mittheilungen.

Ein neuer Buttersäuregärungserreger (Bacillus saccharobutyricus) und dessen Beziehungen zur Reifung und Lochung des Quargelkäses.

[Aus dem Laboratorium für Molkereiwesen der k. k. Jagellonischen Universität in Krakau.]
Von
Dr. Valerian v. Klecki.

Mit 1 Figur.

In einem in Band II. No. 1—3 dieser Zeitschrift veröffentlichten Aufsatze[1]) habe ich die Ergebnisse der bisherigen chemischen und mikrobiologischen Forschungen auf dem Gebiete der Käsereifung zu-

1) Ueber den Reifungsprozefs der Käse. Kritisches Sammelreferat von Dr. Valerian v. Klecki. (Centralblatt f. Bakteriologie. Zweite Abteilung. Bd. II. 1896. p. 21—23, 61—77.)

sammengestellt und daran einige vergleichend-kritische Bemerkungen geknüpft.

Insbesondere habe ich in dem erwähnten Aufsatze auf den Mangel einer systematischen Untersuchung der Rolle, welche die Buttersäuregärung bei dem Reifungsprozeß der Käse spielt, hingewiesen, und eines Buttersäuregärungserregers Erwähnung gethan, welchen ich kultiviert und in dieser Beziehung studiert habe.

In der vorliegenden Arbeit, die ich auf Anregung meines hochverehrten Chefs, Prof. Dr. Adametz, im Laboratorium für Molkereiwissenschaft der Krakauer Universität ausgeführt habe, werden die Ergebnisse meiner eigenen Untersuchungen, und namentlich des Studiums der morphologischen und physiologischen Eigenschaften des erwähnten Buttersäuregärungserregers, sowie dessen Beziehungen zum Reifungsprozeß des Käses geschildert.

Es ist zumal leichter, positive Thatsachen sicher zu ermitteln, als aus denselben richtige Schlußfolgerungen zu ziehen; namentlich trifft dies zu für ein Gebiet, welches — wie dies aus dem Vergleich der in meinem Aufsatze „Ueber den Reifungsprozeß der Käse" zusammengestellten Forschungsresultate und Meinungen wohl zur Genüge deutlich hervorgeht — so verwickelte und verschiedenartige Erscheinungen umfaßt, wie die Vorgänge bei der Reifung des Käses es sind.

Bekanntlich setzt sich dieser Prozeß aus chemischen, bakteriologischen und molkereitechnischen Elementen zusammen, deren Studium sehr genaue Methoden voraussetzt, während die zur Zeit bestehenden in mancher Hinsicht noch recht ungenügend erscheinen.

Zur Beurteilung der Richtigkeit der in vorliegendem Beitrage von mir gezogenen Schlußfolgerungen, welche zum Teil den bisher herrschenden Anschauungen widersprechen, und um den Ideengang, dem ich bei der Ausführung dieser meiner Arbeit gefolgt bin, näher zu präzisieren, habe ich der Darlegung eigener Untersuchungen die erwähnte, die Ergebnisse früherer Arbeiten zusammenfassende Uebersicht vorangeschickt, und möchte auf die in derselben enthaltenen Ausführungen die Leser des nachfolgenden Beitrages verweisen.

Aus den in der von mir zusammengestellten Uebersicht dargelegten historisch-kritischen Betrachtungen über den Käsereifungsprozeß, und namentlich über die Rolle, welche bei diesem Vorgange die Buttersäuregärung spielt, ergeben sich unmittelbar diejenigen Aufgaben und Ziele, die ich mir bei Beginn meiner Untersuchungen zu stellen hatte.

Aus welchem Material wird die in Käsen auftretende Buttersäure gebildet? Kann der im Käse enthaltene Milchzucker direkt zu Buttersäure vergoren werden oder muß er vorher eine Umwandlung in Milchsäure erfahren? Entsteht die Buttersäure bei der Zersetzung des Kaseïns, ohne daß dabei der Milchzucker angegriffen wird, und andererseits, bleibt das Kaseïn bei der Vergärung des Milchzuckers zu Buttersäure unverändert, oder sind beide Vorgänge mit einander eng verknüpft? Alle diese und ähnliche Fragen können in ganz all-

gemeiner Weise nicht beantwortet werden, weil die betreffenden Vorgänge einen, je nach Umständen von Fall zu Fall verschiedenen Verlauf haben können. Es ist daher die Aufgabe der Wissenschaft, die Umstände, von welchen der Verlauf dieser Prozesse abhängt, klarzulegen. Mit Hilfe der Chemie allein kann dies jedoch nicht geschehen; es müssen vielmehr die einzelnen Erreger der in Frage kommenden Vorgänge erkannt und möglichst genau in chemischer und biologischer Beziehung studiert werden.

Es war nun meine Aufgabe, den Erreger der Buttersäuregärung in einem Käse, in welchem Buttersäure deutlich zu spüren war, zu finden, seine morphologischen und physiologischen Eigenschaften zu erforschen, seine Einwirkung auf die Milchbestandteile einer möglichst eingehenden chemischen Untersuchung zu unterwerfen und das Verhalten dieses Buttersäuregärungserregers im Käse durch direkte Versuche an mit diesem Mikroorganismus infizierten Käsen festzustellen. Namentlich sollten dabei folgende zwei Fragen entschieden werden:

1) Aus welchem Material (Milchzucker, Milchsäure, Kaseïn, Fett) wird in dem betreffenden Falle die Buttersäure gebildet?
2) Wird unter dem Einflusse des betreffenden Buttersäuregärungserregers das im Käse enthaltene Kaseïn irgendwie verändert oder zersetzt?

Falls eine mehr oder weniger tiefgreifende Kaseïnzersetzung unter dem Einflusse des betreffenden Mikroorganismus stattfinden sollte, so war es eine weitere Aufgabe, die Art und Weise dieses Zersetzungsprozesses näher zu charakterisieren und seine Tiefe quantitativ zu bestimmen. Bezüglich der Art der Kaseïnzersetzung sollte entschieden werden, ob dieselbe den Charakter eines Fäulnis- oder aber eines einfachen Peptonisierungsprozesses aufweist.

Durch eine in der angegebenen Weise durchgeführte Untersuchung hoffte ich einen Aufschluß über die Beziehung der Buttersäuregärung zum Reifungsprozeß des Käses zu gewinnen.

Als Material für eine derartige Untersuchung eignet sich besonders gut der Quargelkäse, weil derselbe, namentlich wenn er etwas älter ist, deutlich den Geruch nach Buttersäure wahrnehmen läßt. Ueber den Ursprung der im Quargelkäse auftretenden Buttersäure ist uns zur Zeit nichts bekannt, geschweige denn über den Mikroorganismus, welcher die Entstehung derselben im Quargelkäse veranlaßt. Außerdem scheint der Quargelkäse, ein sogen. „raffinierter" saurer Handkäse, dessen Reifung künstlich (durch entsprechende Feuchtigkeit und Wärme des Reifungsraumes) beschleunigt wird und wahrscheinlich sich auch einfacher als die Reifung feiner Dessertkäse gestaltet, zur Untersuchung der Reifungserscheinungen besonders geeignet zu sein.

Es war nun meine erste Aufgabe, den Erreger der im Quargelkäse stattfindenden Buttersäuregärung aufzufinden. Nach einer Reihe mißlungener Versuche ist mir dieses auch wirklich gelungen. Ich kann nicht umhin, jene mißlungenen Versuche kurz zu schildern, weil sie insofern nicht ohne Interesse sind, als durch dieselben eine Voraussetzung, die mir berechtigt zu sein schien, sich als nicht vollkommen stichhaltig erwies. Es ist nämlich bekannt, daß man eine echte Buttersäuregärung mit Hilfe von im Käse enthaltenen Ferment-

organismen am leichtesten dadurch hervorbringen kann, daß man als Substrat der Gärung eine milchsauren Kalk enthaltende Nährlösung verwendet. Daraus würde nun folgen, daß im Käse vornehmlich Buttersäuregärungserreger vom Typus Granulobacter lactobutyricum Beyerinck, wie z. B. der Pasteur'sche Vibrion butyrique oder das Pražmowski'sche Clostridium butyricum enthalten sind, und daß der im Käse enthaltene Milchzucker nicht direkt, sondern indirekt, d. h. nach vorheriger Umwandlung zu Milchsäure vergoren wird. Entsprechend dieser Voraussetzung wandte ich als Nährlösung die klassische Pasteur'sche milchsauren Kalk enthaltene Lösung an. Die Zusammensetzung dieser Lösung ist die folgende:

Milchsaurer Kalk	225 g
Phosphorsaures Ammonium . .	0,75 g
Phosphorsaures Kali	0,4 g
Schwefelsaures Magnesium . . .	0,4 g
Schwefelsaures Ammonium . . .	0,2 g
Wasser	8—10 l.

Diese Lösung sollte nun bei Sauerstoffabschluß durch Impfung mit einem aus dem Innern eines Quargelkäses entnommenen Stückchens Käse in Gärung versetzt werden und aus der auf diese Weise erhaltenen Rohkultur hoffte ich dann leichter den Erreger der Buttersäuregärung isolieren zu können. Zu diesem Zwecke wurde ein Literkolben mit der Pasteur'schen Lösung gefüllt und mit einem dicht passenden doppelt durchbohrten Kautschukpfropfen geschlossen; durch beide Oeffnungen des Pfropfens wurden gebogene Glasröhren in den Kolben eingeführt: eine in die Flüssigkeit eintauchende Zu- und eine Gasableitungsröhre. Nachdem der Kolben samt Inhalt sterilisiert worden war, wurde in denselben ein hirsekorngroßes Stück Quargelkäse hineingebracht, Wasserstoff durchgeleitet und die oberen Mündungen beider Röhren rasch durch Zuschmelzen geschlossen. Der die mit Käse infizierte Nährlösung enthaltende Kolben wurde in den Thermostaten gebracht.

Diesen Versuch habe ich mehrmals wiederholt; um den Sauerstoff, der in den Kolben infolge einer möglicherweise stattfindenden Diffusion eindringen konnte, zu entfernen, wurde die Durchleitung von Wasserstoff von Zeit zu Zeit wiederholt. Auch habe ich, um den Bedingungen vollständiger Anaërobiose in vollkommener Weise Genüge zu leisten, Pasteur'sche Gärungskolben in Anwendung gebracht. Es ist mir jedoch in einer Reihe derartiger Versuche kein einziges Mal gelungen, auf diese Weise mit Hilfe des Quargelkäses Buttersäuregärung zu erzielen. Die Kolben standen monatelang im Thermostaten, ohne irgend eine Andeutung einer, wenn auch noch so schwachen Gärung zu zeigen. Es darf wohl aus dieser Thatsache geschlossen werden, daß die Vergärung der Milchsäure durch den obligat-anaëroben Pasteur'schen Vibrion butyrique oder durch andere Mikroorganismen von demselben physiologischen Typus eine im Käse nicht so häufig vorkommende Erscheinung ist, wie dies zumal geglaubt wird. Wenn auch nicht geleugnet werden kann, daß obligat-anaërobiotische Mikroorganismen, wie der Pasteur'sche Vibrion bu-

tyrique oder das Prażmowski'sche Clostridium butyricum im Käse vorkommen können, so scheint jedenfalls ihr Auftreten im Käse nur ein zufälliges zu sein, wie dies übrigens auch schon früher (Adametz) gelegentlich konstatiert worden ist.

In Anbetracht dieses Ergebnisses, welches im Laufe der weiteren Untersuchung immer nur durch in verschiedener Weise modifizierte Versuche bestätigt wurde, wandte ich Nährlösungen an, welche neben dem milchsauren Kalk auch noch Pepton und Milchzucker enthielten. Ich bereitete eine 2,5 proz. milchsauren Kalk enthaltende Pasteur'sche Mineralsalzlösung von derselben Zusammensetzung wie früher, und fügte zu derselben 2 Proz. Pepton und 5 Proz. Milchzucker hinzu. Mit dieser Flüssigkeit beschickte ich nun 4 Kolben. Zwei von diesen Kolben wurden in gewöhnlicher Weise (völliger Luftzutritt zur Flüssigkeit) aufbewahrt; in den beiden anderen Kolben wurde die Luft durch Wasserstoff verdrängt. In je einem Kolben beider Serien wurde zur Flüssigkeit etwas Kreide hinzugesetzt. Der sterilisierte Inhalt eines jeden der vier Kolben wurde mit einem Stückchen Quargelkäse geimpft. Nach vier Tagen geriet die Flüssigkeit in allen vier Kolben in lebhafte Gärung. In denjenigen Kolben, in welchen die Luft durch Wasserstoff verdrängt worden war, verlief die Gärung so stürmisch, daß die Kolben im Laufe von 5—6 Tagen platzten, wobei beobachtet werden konnte, daß die gebildeten Gase einen unangenehmen fauligen Geruch verbreiteten. Mit einer der gärenden Flüssigkeit (der „Rohkultur") entnommenen Oese wurden geimpft:

1) sterilisierte, milchsauren Kalk enthaltende Pasteur'sche Lösung;
2) sterilisierte Milch.

Beide Flüssigkeiten waren in Pasteur'schen Gärungskolben enthalten. Während die Milch schon am folgenden Tage nach der Impfung in lebhafte Gärung geriet, wobei das dabei ausgefällte Kaseïn von Löchern, Rissen und Sprüngen durchsetzt war, blieb die Pasteur'sche Lösung unverändert.

Es konnte somit keinem Zweifel unterliegen, daß die der ursprünglichen Pasteur'schen Lösung zugesetzten Stoffe der Entwickelung der im Quargelkäse vorhandenen Mikroorganismen förderlich waren.

Es galt nun jetzt, nachdem in den künstlichen, mit Quargelkäse geimpften Nährlösungen eine lebhafte Gärung eingeleitet wurde, den oder die Erreger derselben zu isolieren, wobei selbstverständlich das Augenmerk dahin gerichtet werden mußte, einen echten Buttersäuregärungserreger, d. h. einen Mikroorganismus, welcher Buttersäure als Hauptprodukt bildet, zu isolieren. In den gärenden Flüssigkeiten konnte der Geruch nach flüchtigen Fettsäuren deutlich wahrgenommen werden, woraus auf die Anwesenheit des im Quargelkäse Buttersäure erzeugenden Mikroorganismus mit Sicherheit geschlossen werden konnte. Bei der mikroskopischen Untersuchung der gärenden Flüssigkeiten fand ich darin verschiedene Mikroorganismen; unter denselben war ein anscheinend sporenhaltiger Bacillus vorhanden, welcher meine Aufmerksamkeit besonders auf sich lenkte. Ich habe diesen Bacillus, welcher, wie sich erst später herausstellte, der Erreger einer Butter-

säuregärung war, in allen gärenden, von mir verwendeten Flüssigkeiten (Nährlösungen sowie in Milch) gefunden.

Um nun den Erreger der in den Nährlösungen neben anderen Gärungen stattfindenden Buttersäuregärung zu isolieren, legte ich Plattenkulturen an, und zwar geschah die Züchtung sowohl bei Zutritt als auch unter Ausschluß von Sauerstoff. Die letztere Art der Züchtung geschah nach der von Botkin[1]) angegebenen Methode durch Ersatz der Luft durch Wasserstoff. Auf diese Weise züchtete ich eine ganze Reihe von Mikroorganismen, deren Verhalten in der Milch ich alsdann prüfte. Diejenigen Mikroorganismen, die keine Einwirkung auf die Milchbestandteile zu haben schienen, schloß ich von der näheren Untersuchung aus. Unter den erwähnten Mikroorganismen bot die Mehrzahl kein besonderes Interesse; es waren darunter hauptsächlich Milchsäurefermente vorhanden, welche die Milch in bekannter Weise zum Gerinnen brachten. Zwei Mikroorganismen verdienen jedoch hier kurz erwähnt zu werden, wennschon ihre Eigenschaften nicht genauer untersucht worden sind und zwar einfach aus dem Grunde, weil meine Aufmerksamkeit ausschließlich auf Buttersäuregärungserreger gerichtet war. Die zwei Mikroorganismen sind die folgenden:

1) ein kurzer Bacillus, welcher fast den Eindruck eines Micrococcus macht (ein sogen. Coccobacillus), und
2) eine in Milchzuckergelatine gasbildende Hefeart.

Der Bacillus ist insofern interessant, als er bei Luftzutritt sich in einer milchsauren Kalk enthaltenden (pepton- und zuckerfreien) Mineralsalzlösung (Pasteur'sche Lösung von der oben angegebenen Zusammensetzung) zu entwickeln im Stande ist. Auf Gelatineplatten wächst er in Gestalt von runden, scharf umgrenzten, feingekörnten Scheiben von intensiv gelber Farbe. In Gelatineröhrchen entwickelt er sich in Gestalt einer gelben Auflagerung, welche sich über die ganze Oberfläche der Gelatine ausbreitet.

Die gefundene Hefeart bildet auf der Oberfläche der Gelatineplatte graue, schleimige Kolonieen. Unter dem Mikroskop zeigen dieselben bei schwacher Vergrößerung einen gezähnelten Rand mit langen Fortsätzen; das Innere der Kolonie sieht einem vielfach verzweigten und verfilzten Gewebe ähnlich; im Centrum erscheinen die Kolonieen gelblich gefärbt. In Gelatineröhrchen wächst die Hefeart nur auf der Oberfläche und breitet sich daselbst als eine dicke graue Auflagerung, die mit wulstförmigen, nach verschiedenen Richtungen hin verlaufenden Erhöhungen überzogen ist, was derselben ein gefältetes Aussehen verleiht. In älteren Kulturen ist die Konsistenz der Auflagerung eine lederartig harte. In Stichkulturen in Milchzuckergelatine sieht man in kurzer Zeit nach der Impfung Gasblasen entstehen. Diese Hefeart ist durch ihre Gasbildung in milchzuckerhaltigen Nährboden interessant, wenngleich derartige Milchzucker vergärende Hefearten bereits schon bekannt sind (Adametz, Beyerinck, Duclaux, Kayser).

Andere von mir aus dem Quargelkäse in der angegebenen Weise gezüchtete (aërobiotische und anaërobiotische) Mikroorganismen boten

---

1) Zeitschrift f. Hygiene. Bd. XI. p. 383.

nichts Besonderes, und namentlich waren darunter keine Buttersäuregärungserreger vorhanden, bis endlich meine Aufmerksamkeit auf einen Bacillus gelenkt wurde, welcher in hoher Gelatineschicht kultiviert, eine deutliche Gasbildung zeigte. Dieser Bacillus, welchen ich bei der mikroskopischen Untersuchung der gärenden Flüssigkeiten (siehe oben) mehrmals gesehen hatte, wurde aus einer mit einem Stückchen Käse infizierten und bei Luftabschluß (durch Verdrängung mit Wasserstoff) gärenden Pasteur'schen Lösung isoliert, welche 2 Proz. Pepton, 5 Proz. Milchzucker, 2,5 Proz. milchsauren Kalk und Mineralsalze in dem schon früher angegebenen Verhältnis enthielt. Die Isolierung dieser Form geschah mittels Plattenkulturen für Anaërobier nach dem Verfahren von Botkin (siehe oben). Auf den Platten waren nur zwei Kolonieen dieses Bacillus zu sehen; dieselben lagen ganz tief in der Gelatine (Milchzuckergelatine). Außer einigen Kolonieen, die aus Mikroorganismen anderer Art bestanden, sah man auf den Platten sonst nur dellenförmige Einsenkungen, in deren Centrum tief in der Gelatine ein hellgelbes Körnchen sichtbar war, während die umliegende Gelatine etwas erweicht, nicht im geringsten aber verflüssigt war. Die Kolonieen waren von hellgelber Farbe und zeigten bei mikroskopischer Beobachtung scharfe ovale Konturen und feine Körnung im Innern. Nachdem Milchzuckergelatine (in hoher Schicht) mit dem Inhalte einer von diesen Kolonieen geimpft worden war, beobachtete ich nach Verlauf einer bestimmten Zeit im Gelatineröhrchen eine lebhafte Gasentwickelung. Um die Einwirkung dieses Bacillus auf Milch zu studieren, impfte ich mit demselben sterilisierte, in einem Pasteur'schen Gärungskolben enthaltene Milch und brachte den Kolben in den Brutschrank. Nach genau 20 Stunden begann eine so stürmische Gasentwickelung, daß bei dem Sammeln der zuerst gebildeten Gase gewöhnlich ein Eudiometer vollständig mit Gas gefüllt war, ehe man Zeit hatte, es durch ein anderes zu ersetzen, weshalb der Kolben aus dem Thermostaten herausgebracht werden mußte. Nach 7 Tagen war die Milch vergoren und es war keine Gasentwickelung mehr darin zu sehen.

Bei näherer Prüfung ergab sich, daß der gefundene Bacillus ein neuer Buttersäuregärungserreger ist; durch direkte Versuche wies ich alsdann nach, daß er am Reifungsprozesse des Quargelkäses beteiligt ist oder wenigstens bei diesem Vorgange eine nicht unbedeutende Rolle spielt. Ich habe daher die morphologischen und namentlich die physiologischen Eigenschaften dieses Bacillus so genau wie möglich untersucht, und habe namentlich zu entscheiden versucht, ob und in welchem Maße das Kaseïn von diesem Buttersäuregärungserreger angegriffen wird.

Bacillus saccharobutyricus.

A. Morphologie.

I. Mikroskopisches Verhalten.

Bacillus saccharobutyricus ist ein 0,7 μ breiter, 5—7 μ langer, gerader oder leicht wellig gebogener Bacillus mit runden

Enden. Die Fortpflanzung geschieht durch endständige (an einem Ende, seltener an beiden Enden) Sporen. Der Bacillus bildet auch freie, ovale Sporen. Man findet verhältnismäßig oft bis 15 μ lange Fäden. Eine kettenförmige Anlagerung der Bacillen ist selten zu sehen. Findet eine solche jedoch statt, so sind die Ketten ganz kurz: sie bestehen nur aus 2—4 Gliedern. In Flüssigkeiten findet man ziemlich oft bis 20 μ lange Fäden. Der Bacillus ist langsam schlängelnd beweglich. Mit Anilinfarben färbt er sich sehr leicht; die Gram'sche Färbung nimmt er nicht auf. In einem Tropfen Jodlösung untersucht, zeigt der Bacillus manchmal violette Körnchen. In ungefärbten Präparaten, namentlich älterer Kulturen, sieht man häufig im Innern der Stäbchen eine Körnung; dieselbe ist jedoch wohl als Involutionserscheinung zu deuten.

II. Stichkulturen in milchzuckerhaltiger Gelatine und Milchzuckeragar (hohe Schicht).

Der Bacillus saccharobutyricus wächst in milchzuckerhaltiger Gelatine in Gestalt von vereinzelten kugelrunden oder eiförmigen Körnchen dem Impfstiche entlang. Das Wachstum beginnt erst ca. 1,5 cm unter der Oberfläche der Gelatine. Die Größe der Körner ist von verschiedenen äußeren Umständen (Konsistenz der Gelatine etc.) abhängig; die Größe des Körnerdurchmessers schwankt zwischen 0,5 und 1,5 mm. Bald nach der Impfung beginnt in der Milchzuckergelatine eine Gasentwickelung. Anfangs sieht man in der Gelatine nur eine einzige Gasblase, später wird die Gasbildung immer lebhafter, bis endlich die Gelatine ganz von Gasblasen durchsetzt und zersprungen ist. Nach einer gewissen Zeit (sehr bald, wenn die Gelatine weich war) trübt sich der Nährboden, an einzelnen Stellen sieht man gelblich-weiße Häufchen, die aus Bakterien bestehen, die Gasblasen umgeben und auch sonst zerstreut in der Gelatine an verschiedenen Stellen sich ansammeln. Die Gase treten schließlich aus und auf der Oberfläche der Gelatine bildet sich eine Art Schaum. Die beigelegte Abbildung stellt eine Gelatinekultur des Bacillus saccharobutyricus vor[1]).

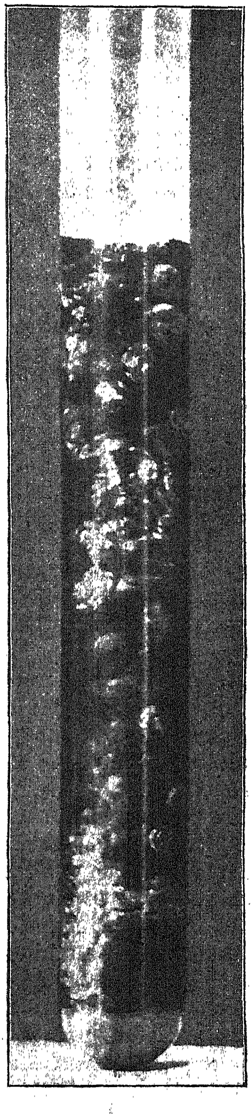
In Milchzuckeragarröhrchen wächst der Bacillus saccharobutyricus dem Impfstiche entlang. An derjenigen Stelle, wo der Impfstich gemacht worden ist, befinden sich weiße schleierartige Massen, die sich in die Breite ausdehnen, und die Agarmassen in einzelnen Partieen wie getrübt erscheinen lassen. Die Agarmasse wird auch hier von Gasblasen durchsetzt und zerklüftet.

Es ist interessant, die allmähliche Anpassung dieses Mikroorganismus an den festen Nährboden und die Abhängigkeit seines Wachstums von der Temperatur zu verfolgen.

Die erste Reinkultur des Bacillus saccharobutyricus wurde durch Impfung eines Milchzuckergelatineröhrchens mit dem Inhalte einer in Wasserstoffatmosphäre auf einer Platte gewachsenen

1) Die Abbildung veranschaulicht die lebhafte Gasbildung im Gelatineröhrchen; die aus Bakterien bestehenden kleinen Körnchen im unteren Teile des Röhrchens lassen sich auf der Reproduktion nicht deutlich genug erkennen.

Kolonie am 5. Februar 1895 erhalten. Die erste Gasblase entstand im Röhrchen am 10. März, also nach 33 Tagen (täglich wurden die Kulturen mehrere Male einer Revision unterzogen). Am 19. März in frische Gelatine umgeimpft, zeigte die Kultur schon am 1. April (also nach 12 Tagen) die erste Gasblase. Am 19. April wurde abermals abgeimpft und die erste Gasblase erschien schon am 21. April (also nach 2 Tagen). Am 4. Mai wurde nochmals abgeimpft und die Gasbildung begann am folgenden Tage (5. Mai) abends (also nach $1^1/_2$ Tagen). Später (im Sommer) erhielt ich Wachstum und Gasbildung in den Gelatineröhrchen stets am folgenden Tage oder höchstens 2—3 Tage nach der Impfung. Im Winter wächst der Bacillus langsamer; unter 18° C findet Gasbildung nur erst nach längerer Zeitdauer und nur in geringerem Maße statt.



Wie aus dem bereits Mitgeteilten ersichtlich, haben wir es hier mit einem anaërobiotischen Mikroorganismus zu thun. Er wächst nur in der Tiefe der Nährgelatine und erzeugt in Flüssigkeiten eine Gärung nur bei Luftabschluß. In mit Scheidetrichtern versehenen Pasteur'schen Gärungskolben, sowie in Kolben, welche ähnlich den von Botkin bei dessen Untersuchungen über den Bacillus butyricus benutzten eingerichtet waren, war dies sehr deutlich zu sehen; während im Innern des Kolbens, wo die Luft durch Auskochen der den Kolben vollständig ausfüllenden Flüssigkeit bzw. durch Auskochen und Auspumpen entfernt war, eine lebhafte Gärung stattfand, blieb die Flüssigkeit im oberen Trichter, der zum Impfen diente, und in welchem die geimpfte Flüssigkeit in Berührung mit der Luft war, vollständig unzersetzt, bis sie schließlich nach monatelangem Stehen austrocknete. Dieses Verhalten der Flüssigkeiten veranschaulicht deutlich die Anaërobie des hier beschriebenen Gärungserregers; andererseits aber lieferte es mir eine Kontrolle, sowie den bestmöglichen Beweis einwandsfreier Arbeit, namentlich in Bezug auf absolute Sterilisation der Flüssigkeiten, was in Anbetracht der großen Mengen der verwendeten Flüssigkeiten und der Art und Weise der Versuchsanordnung manche Schwierigkeiten bot, worüber im Nachfolgenden noch näher berichtet werden wird.

III. Plattenkulturen auf milchzuckerhaltiger Nährgelatine.

Das oben geschilderte Verhalten des Bacillus saccharobutyricus gegenüber dem Sauerstoff, namentlich dessen Anaërobie, erklärt die interessanten Beobachtungen, welche bei der Plattenkultur dieses Mikroorganismus von mir gemacht worden sind. Wie ich bereits schon erwähnt habe, wurde der Bacillus saccharobutyricus durch Abimpfen aus einer in Wasserstoffatmosphäre auf einer Milchzuckergelatineplatte wachsenden Kolonie in Reinkultur erhalten. Es ist bekannt, daß anaërobe Buttersäuregärungserreger auf Platten zumal schwer wachsen. Als ich nun zwecks genauerer Beschreibung des Aussehens der Kolonieen auf Gelatineplatten Aussaaten vornahm, sah ich nicht ohne Erstaunen, daß auf den Platten, außer einigen Bläschen und dellenartigen Einsenkungen, nichts vorhanden war, trotzdem die Platten genau in derselben Art und Weise wie früher (in Wasserstoffatmosphäre und unter Benutzung derselben milchzuckerhaltigen Nährgelatine) angelegt worden waren. Ich wiederholte diese Versuche noch sechs Mal (jedesmal drei Verdünnungen), wobei ich die Kultur sowohl in Wasserstoff-, als auch in Kohlensäureatmosphäre vornahm. Das Resultat war dasselbe wie früher: es waren keine deutlich entwickelten Kolonieen zu sehen; nur an einigen Stellen der Platten resp. Schalen, wo die Dicke der Gelatineschicht zufällig eine größere war, sah ich in der Tiefe liegende kleine Kolonieen, ähnlich denjenigen, welche oben beschrieben worden sind. Diese Kolonieen waren in der Mehrzahl der Fälle oval, sonst aber auch von unregelmäßiger Gestalt, hell, granuliert; sie boten sonst nichts Charakteristisches. Die etwas größeren Kolonieen waren bräunlich gefärbt, oft zeigten sie einen schärferen Rand. Als ich den Inhalt der in der Tiefe der Gelatine wachsenden Kolonie zur Kontrolle prüfte, fand ich darin meinen Bacillus saccharobutyricus. Es konnte daraus geschlossen werden, daß der Bacillus saccharobutyricus auf Gelatineplatten, namentlich wenn die Gelatineschicht dünn auf der Platte ausgegossen ist, schwer zur Entwickelung gelangt, auch wenn die im Kulturraum enthaltene Luft durch Wasserstoff oder Kohlensäure ersetzt ist. In Anbetracht dessen, daß der Bacillus saccharobutyricus in hohen Schichten derselben Milchzuckergelatine außerordentlich gut gedieh, erschien mir die Thatsache, daß seine Entwickelung auf anaërobiotischen Platten so schwer zustande kommt, etwas auffallend, wenn auch zugegeben werden muß, daß die Wachstumsbedingungen in beiden Fällen einander nicht vollkommen gleich sind. Um meine diesbezüglichen Beobachtungen vor deren Veröffentlichung auch durch anderwärts angestellte Versuche zu kontrollieren, und auf diese Weise die Möglichkeit eines vielleicht zufällig eingeschlichenen Versuchsfehlers auszuschließen oder wenigstens unwahrscheinlich zu machen, übersandte ich die Kulturen des Bacillus saccharobutyricus in das Institut Pasteur in Paris, wo dieselben von meinem Bruder, Dr. Carl v. Klecki, auf ihr Plattenwachstum genau untersucht wurden. Die im Institut Pasteur angestellten Beobachtungen bestätigten die hier von mir mitgeteilten

Ergebnisse insofern, als gleichfalls konstatiert wurde, daß der Bacillus saccharobutyricus auf bei vollständigem Luftabschluß gehaltenen Milchzuckergelatineplatten selten und nur sehr schwierig zur Entwickelung gelangt. Von zehn Platten war nur auf zweien das Wachstum der Kolonieen bemerkbar; auf den übrigen acht Platten sah man nur hie und da Gasblasen, und in der Tiefe der Gelatine an denjenigen Stellen, wo Gasblasen vorhanden waren, bemerkte man einen körnigen Bodensatz. Ausgesprochen gutes Wachstum konnte mein Bruder nur in denjenigen Fällen konstatieren, wo die Gelatineschicht absichtlich in einer dicken Schicht ausgegossen, und wo verhältnismäßig viel Impfstoff (Verdünnung O) angewendet wurde.

B. Physiologie.

I. Die in der Milch vom **Bacillus saccharobutyricus** eingeleiteten chemischen Umsetzungen.

Wie bereits erwähnt worden ist, veranlaßt der Bacillus saccharobutyricus in der Milch eine stürmische Gärung. Es war nun meine Aufgabe, die bei dieser Gärung entstehenden Produkte qualitativ nachzuweisen und womöglich auch quantitativ zu bestimmen. Zur qualitativen Untersuchung benutzte ich den Inhalt eines ca. 350 ccm fassenden Pasteur'schen Gärungskolbens; für quantitative Bestimmungen war diese Menge jedoch zu gering, und, da größere Pasteur'sche Kolben nicht handlich sind, so habe ich es vorgezogen, große, 2—4 Liter fassende, und in entsprechender Weise für Luftabschluß hergerichtete Kochkolben zu verwenden. Die Anordnung war, von einigen Modifikationen abgesehen, im wesentlichen ähnlich derjenigen, wie sie von Botkin bei dessen Untersuchungen über den Bacillus butyricus getroffen worden war.

Es wurde ein Kolben aus bestem Glase mit Milch bis zum Halse gefüllt. Tief in den Hals hinein wurde ein zweifach durchbohrter, möglichst gut passender Korkpfropfen eingepreßt. Durch die eine Oeffnung des Pfropfens wurde ein tief in die Milch tauchender Scheidetrichter, dessen obere Oeffnung mit Watte geschlossen war, eingeleitet; durch das andere Bohrloch ging ein rechtwinklig gebogenes, mit einem Glashahn verschließbares Gasableitungsrohr; die eine Oeffnung des letzteren befand sich unmittelbar unter dem Pfropfen, und kam mit der Milchoberfläche nicht in Berührung; die andere Oeffnung des Gasableitungsrohres mündete unter Quecksilber. Auf den Pfropfen wurde ein durch Zusammenschmelzen von Siegellack und venezianischem Terpentinöl bereiteter Kitt heiß gegossen und nach dem Erstarren auf den festen Kitt Quecksilber gebracht. Auf diese Weise wurde jede Diffusion von Gasen verhindert. Die Milch wurde bei offenen Hähnen 5—6 Mal entweder 2—3 Stunden lang auf dem Wasserbade oder $^3/_4$ Stunden auf freiem Feuer zum Kochen erhitzt; während des letzten Sterilisierens wurde der Glashahn des Scheidetrichters, nachdem letzterer mit Milch bis etwa zur Hälfte gefüllt war, geschlossen, worauf die Luft aus dem Kolben mit Hilfe einer Wasserluftpumpe entfernt wurde. Bei dem Auspumpen der Luft stieg die Milch im Kolbenhalse so hoch, daß sie fast bis zum Pfropfen

reichte. Alsdann wurde der zweite Glashahn (am Ableitungsrohr) geschlossen und die Milch zur Prüfung ihrer Sterilität für einige Zeit stehen gelassen. Die Impfung geschah in der Weise, daß ich die im Scheidetrichter angesammelte Milch vermittelst eines Platindrahtes impfte, und dann mit Hilfe des unten befindlichen Glashahnes ein wenig von der geimpften Milch durch das Rohr des Scheidetrichters in den Kolben fließen ließ.

Diese Anordnung der Versuche war etwas langwierig; es war nicht zu vermeiden, daß dabei einige Kolben platzten; sofern aber dies nicht stattgefunden hatte, konnte man die volle Sicherheit haben, daß den Bedingungen vollständiger Anaërobiose genügt worden ist, und daß die Sterilisierung großer Mengen einer so schwer absolut zu sterilisierenden Flüssigkeit, wie es die Milch ist, eine vollkommene war; was den letzten Punkt anbelangt, so hatte man eine Garantie in der Thatsache, daß, während unten im Kolben eine lebhafte Gärung stattfand, oben im Scheidetrichter sich die Milch unbegrenzt lange (bis zum Austrocknen, was nahezu 1 Jahr gedauert hat) in unverändertem Zustande hielt. Die erste qualitative Untersuchung der in der Milch durch den Bacillus saccharobutyricus erzeugten Gärungsprodukte geschah unter Benutzung von ca. 350 g vergorener Milch. Die Gärung verlief in folgender Weise: am folgenden Tage nach dem Impfen (nach ca. 20 Stunden) erscheinen zunächst nur an einer, dann an mehreren Stellen dunklere Flecke, in welchen anfangs sehr kleine, später immer größer werdende Gasblasen sich bilden und in die Höhe steigen, um schließlich sich als feiner Schaum an der Oberfläche der Milch zu sammeln. Bald darauf gerät die gesamte Milchmenge in stürmische Gärung, wobei im Laufe einiger Tage sich am Boden des Gefäßes ein feiner Kaseïnniederschlag ansammelt. Inzwischen wird die über dem Niederschlage befindliche Flüssigkeit allmählich durchsichtiger, bis endlich nach vollendeter Gärung der Kaseïnniederschlag als von Löchern, Poren und Rissen ganz durchsetzter, schwammiger, etwas rötlich gefärbter Bodensatz ruhen bleibt, während darüber eine harngelbe Flüssigkeit sich befindet.

Die Analyse der vergorenen Milch wurde auf folgende Weise ausgeführt: Die vergorene Milch, die eine stark saure Reaktion zeigte, wurde mit Oxalsäure versetzt. Nach Abfiltrieren des aus Kaseïn und oxalsaurem Kalk bestehenden Niederschlages wurde die dabei erhaltene, ganz klare gelbe Flüssigkeit (195 ccm) der Destillation unterworfen. Ein Teil des Destillates wurde mit Soda übersättigt und abermals destilliert. Das so erhaltene Destillat hatte einen eigentümlichen, jedoch nicht alkoholischen Geruch, und gab die Lieben'sche Jodoformreaktion. In einer besonderen Probe wurde auf die Anwesenheit von Phenol geprüft. Phenol war nicht vorhanden: beim Kochen mit Millon'schem Reagens entstand keine Rotfärbung, und der Zusatz von Bromwasser erzeugte keine Trübung. Ein anderer Teil des Destillates wurde mit Aetzkali stark alkalisch gemacht und abermals destilliert. Im Destillat waren weder Ammoniak noch Indol und Skatol, weder durch den Geruch, noch durch chemische Reaktionen nachweisbar. Auf Ammoniak wurde mit Neßler'schem Reagens geprüft; zum Nachweise des Indols und Skatols wurden die charak-

teristischen Reaktionen mit salpetrige Säure enthaltender Salpetersäure, sowie mit einem Gemisch von Pikrinsäure und Salzsäure in Anwendung gebracht.

Um über die Anwesenheit von Alkohol zu entscheiden, genügt bekanntlich die Jodoformreaktion nicht. Andere Reaktionen auf Alkohol (mit Benzoylchlorid, ferner durch Oxydation des eventuell vorhandenen Alkohols mit Hilfe von Kaliumbichromat und Schwefelsäure) fielen negativ aus. Es wurde daher versucht, durch Siedepunktsbestimmungen zu entscheiden, ob bei der Vergärung der Milch durch den Bacillus saccharobutyricus Alkohol gebildet wird. Zu diesem Zwecke wurde eine größere Menge vergorener Milch (500 ccm) einer wiederholt fraktionierten Destillation (unter Benutzung des Linnemann'schen Rohres) unterworfen. Das Destillat wurde mit Pottasche übersättigt; es schied sich aber auch nach mehreren Tagen keine leichtbewegliche, obenauf schwimmende alkoholhaltige Flüssigkeitsschicht ab. Durch abermaliges vorsichtiges Destillieren über ausgeglühten Kalk und Siedepunktsbestimmung des Destillats konnte die Gegenwart von Alkohol nicht nachgewiesen werden. Die Temperatur stieg rasch auf 98° C, wobei der Siedepunkt konstant blieb. — Nach dem hier Mitgeteilten zu urteilen, wird somit durch den Bacillus saccharobutyricus in der Milch ein die Jodoformreaktion gebender Körper gebildet. Falls derselbe Alkohol war, so konnte er nur in sehr geringer Menge vorhanden sein.

Alle oben geschilderten Ergebnisse wurden später bei Gelegenheit der quantitativen Untersuchungen, zu welchen über 2 Liter Milch verwendet worden sind, bestätigt. Auch die geringste Menge Ammoniak konnte durch Destillation mit Aetzkali und Auffangen in vorgelegter titrierter Säure nicht nachgewiesen werden; ebenso war weder Indol noch Skatol in der vergorenen Milch enthalten. Auch der Nachweis von Alkohol durch Siedepunktsbestimmung des genügend konzentrierten und entwässerten Destillates konnte nicht geliefert werden, woraus sich ergiebt, daß bei dieser Gärung die Menge des eventuell sich bildenden Alkohols nur eine äußerst geringe sein konnte.

Der erste mit Soda neutralisierte Destillationsrückstand konnte flüchtige Fettsäuren enthalten. Derselbe wurde daher mit Schwefelsäure bis zur deutlich sauren Reaktion versetzt und mit Wasserdämpfen destilliert. Das Destillat, welches stark nach Fettsäuren (Buttersäure) roch, wurde mit Baryt übersättigt, dessen Ueberschuß dann durch Einleiten von Kohlensäure und Erhitzen entfernt wurde. Nach Abfiltrieren des gebildeten Baryumkarbonats blieb eine vollkommen neutrale Lösung der Baryumsalze der Fettsäuren zurück. Diese Lösung gab mit einer Lösung von Silbernitrat einen bedeutenden schwarzen Niederschlag von reduziertem Silber; mit Eisenchlorid versetzt, zeigte sie eine Rotfärbung. Es war demnach in der Flüssigkeit Ameisensäure vorhanden.

Der nach dem Abdestillieren der Fettsäuren hinterbliebene Destillationsrückstand wurde auf dem Wasserbade stark eingeengt und mit Aether extrahiert. In dem Aetherextrakte wurde, nach Abdestillieren des Aethers, Milchsäure durch Kochen mit Zinkoxydhydrat,

Filtrieren und Krystallisation, nicht gefunden. Der Aetherextrakt war dunkel gefärbt; nach Abdestillieren des Aethers blieb eine geringe Menge eines grünlich-braunen Oels zurück, welches, mit Wasser versetzt, eine trübe Lösung bildete. In dieser Lösung war weder Skatolkohlensäure noch Skatolessigsäure vorhanden, wie aus dem Verhalten gegenüber Salpetersäure und Kaliumnitrit, sowie Salzsäure und Eisenchlorid zu schließen war. Die filtrierte Lösung gab mit Millon'schem Reagens nur eine Trübung. Es waren demnach darin auch keine aromatischen Oxyverbindungen vorhanden. Alle diese Befunde wurden später auch bei der Verarbeitung einer größeren Menge (über 2 Liter) vergorener Milch bestätigt.

In dem nach dem Ausschütteln mit Aether hinterbleibenden Rückstande wurden Niederschläge erzeugt durch: 1) Pikrinsäure, 2) Sättigung mit Ammoniumsulfat bei Siedetemperatur, 3) Phosphorwolframsäure, und 4) Gerbsäure; Millon's Reagens erzeugte eine deutliche Rotfärbung.

Ein Teil dieses flüssigen Rückstandes wurde mit Phosphorwolframsäure gefällt. Der dabei erhaltene Niederschlag wurde mit schwefelsäurehaltigem Wasser ausgewaschen, mit Barytwasser zersetzt (bis die Flüssigkeit eine schwach alkalische Reaktion zeigte), und der gebildete phosphorsaure und schwefelsaure Baryt abfiltriert. In das Filtrat wurde Kohlensäure eingeleitet, und das ausgefällte kohlensaure Baryum abfiltriert. Das auf dem Wasserbade eingeengte Filtrat gab eine prachtvolle Biuretreaktion.

Leucin und Tyrosin konnten (durch Krystallisation und mikroskopische Prüfung) nicht nachgewiesen werden.

Nachdem die qualitative Prüfung über die bei der Vergärung der Milch durch den Bacillus saccharobutyricus gebildeten Gärungsprodukte Aufschluß gegeben hatte, wurde an eine genauere, womöglich quantitative Untersuchung geschritten. Es handelte sich dabei nicht darum, die Menge aller bei der Gärung gebildeten Gärungsprodukte quantitativ zu bestimmen, als vielmehr darum, durch die quantitative Untersuchung einmal die Ergebnisse der qualitativen Prüfung zu erhärten, und ferner die zwei wichtigen Fragen zu entscheiden: 1) aus welchem Materiale die bei der durch den Bacillus saccharobutyricus veranlaßten Gärung entstehende Buttersäure gebildet wird, und 2) ob und in welchem Grade (quantitativ) das Kaseïn bei dieser Art der Buttersäuregärung angegriffen wird.

Zu diesem Zwecke wurde eine abgewogene größere Menge Milch, deren Zusammensetzung durch die chemische Analyse ermittelt worden war, einer Vergärung durch den Bacillus saccharobutyricus unterworfen und die nach vollendeter Gärung vorhandenen Gärungsprodukte eingehend untersucht.

Es wurden 2036,56 g abgerahmter und mit Wasser verdünnter Milch abgewogen. Die Aufrahmung geschah mittelst eines Laval'schen Alphaseparators, welcher, wie durch im Laboratorium früher ausgeführte Ausrahmungsgradbestimmungen festgestellt worden war, ausgezeichnet wirkte. Die chemische Analyse der abgerahmten und verdünnten Milch ergab folgendes Resultat:

Wasser	91,55
Eiweiß	3,02
Fett	0,15
Milchzucker	4,53
Asche	0,65
	99,90

Das Eiweiß wurde aus dem Stickstoffgehalte der Milch (nach Kjeldahl bestimmt) berechnet; der Milchzuckergehalt wurde gewichtsanalytisch, der Fettgehalt mit Hilfe des Gerber'schen Centrifugalapparates (Acidbutyrometers) ermittelt.

Die in einem in der vorher beschriebenen Weise für Gärungsversuche mit Anaërobien eingerichtetem Kolben enthaltene Milch wurde bei offenen Hähnen sterilisiert, nach Entfernung der Luft mit dem Bacillus saccharobutyricus geimpft. Die Gärung begann nach ca. 60 Stunden (beim Stehen bei Zimmertemperatur). Nachdem die Gärung begonnen hatte, wurde der Hahn des unter Quecksilber tauchenden Gasableitungsrohres geöffnet und der Kolben in den Thermostaten (35 ^{0} C) gebracht. Nach 14 Tagen war die Milch schon vergoren und es entwickelten sich darin keine Gase mehr. Zunächst habe ich versucht, den in der vergorenen Milch ausgeschiedenen Kaseïnniederschlag wenigstens annähernd seiner Menge nach zu bestimmen. Obschon diese Bestimmung auf vollständige Genauigkeit nicht Anspruch erheben konnte, so hoffte ich doch wenigstens einen Einblick in das Maß der Kaseïnzersetzung, wenn auch nur aproximativ, zu gewinnen, umsomehr, als der unvermeidliche Versuchsfehler in diesem Falle durch die Größe der angewandten Milchmenge zum Teil aufgehoben werden mußte. Da es sich darum handelte, die bei der Gärung in Lösung gebrachten stickstoffhaltigen Stoffe zu bestimmen, so filtrierte ich den Kaseïnniederschlag unter vermindertem Druck über reine, dichte Leinwand ab, und preßte denselben aus, ohne ihn aber auszuwaschen, um nicht durch das Auswaschen einen Teil des Kaseïns eventuell in Lösung zu bringen. Ich nahm dabei also Rücksicht auf die Löslichkeitsverhältnisse des Kaseïns, welche von Duclaux so eingehend studiert worden sind, und wonach ein Teil des ausgefällten Kaseïns unter Umständen wieder in Lösung gebracht werden kann. Die durch die Leinwand hindurchgehende Flüssigkeit, die noch etwas trübe war, fällte ich mit Oxalsäure, filtrierte durch dichtes Filtrierpapier, bis ich eine absolut klare Lösung erhielt. Auf diese Weise hatte ich zwar einen nicht vollkommen reinen Kaseïnniederschlag, andererseits aber eine Flüssigkeit, die jedenfalls nur solche Substanzen gelöst enthielt, welche entweder in der Milch ursprünglich gelöst waren oder im Laufe der Gärung, nicht aber während der Analyse in Lösung gegangen sind. Der Kaseïnniederschlag wurde im Trockenschrank (in Wasserstoffatmosphäre) 5 Tage lang getrocknet. Während des Trocknens wurde der Kaseïnniederschlag, um das Austrocknen zu beschleunigen, von Zeit zu Zeit zerkleinert. Nach 5-tägigem Trocknen betrug das Gewicht dieses Niederschlages 66,75 g (= 3,2 Proz. der gesamten Milchmenge). Von

diesem Niederschlage wurde ein aliquoter Teil (5,2824 g) abgewogen, in Wasserstoffatmosphäre bei 100° 16 Tage lang bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, der Wassergehalt berechnet, und in dem getrockneten Niederschlage der Fett- und der Aschegehalt bestimmt. Nach Umrechnung der dabei erhaltenen Zahlen auf die Gesamtmenge des Niederschlages konnte die Menge des ausgefällten wasser-, fett- und aschefreien Kaseïns berechnet werden.

In 5,2824 g feuchten, fett- und aschehaltigen Kaseïnniederschlages waren enthalten:

Wasser	0,3440 g
Fett	0,1695 g
Asche	0.4664 g
	0,9799 g

Demnach waren enthalten in 66,75 g feuchten und unreinen Kaseïns:

Wasser	4,3469 g
Fett	2,1418 g
Asche	5,8935 g
	12,3822 g = 18,55 Proz.

Die Menge des aus 2036,56 g Milch ausgefällten reinen Kaseïns beträgt somit a n n ä h e r n d 66,75—12,38 = **54,37** g oder 2,66 Proz. Ursprünglich enthielt die Milch **3,02** Proz. Eiweiß. Daraus folgt nun, daß in der vergorenen Milch 3,02—2,66 = **0,36** Proz. gelöste stickstoffhaltige Körper enthalten waren.

Wenn auch die letztere Zahl nicht vollkommen richtig ist, was in Anbetracht der mit unvermeidlichen Fehlern behafteten Methode nicht befremdend sein kann, so zeigt jedenfalls diese erste orientierende analytische Untersuchung, daß, wenn bei der durch den B a c i l l u s s a c c h a r o b u t y r i c u s veranlaßten Buttersäuregärung eine Eiweißzersetzung stattfindet, dieselbe nur unbedeutend sein kann.

Um über die Art der Kaseïnfällung einigen Aufschluß zu erhalten, versetzte ich frische Milch bei ca. 30° C mit verschieden großen Mengen der vergorenen Milch (1 : 50, 1 : 25, 1 : 5, 1 : 1) und ließ dieselbe im Thermostaten stehen. Eine Fällung trat erst nach ca. 12 Stunden ein, was darauf hinweist, daß die Fällung eine Säure-, und nicht eine Labfällung war.

(Fortsetzung folgt.)

Experimentelle Untersuchungen über die vermeintliche Umbildung verschiedener Schimmelpilze in Saccharomyceten.

Zweite Mitteilung

von

Alb. Klöcker und **H. Schiönning,**
Assistenten am Carlsberg-Laboratorium.

In dieser Zeitschrift. Bd. I. 1895. No. 22/23. p. 777. haben wir eine vorläufige Mitteilung über unsere Experimente in Betreff der vermeintlichen Entwickelung eines Saccharomyceten aus Aspergillus Oryzae gegeben; die Konidien des letztgenannten Pilzes sollen nämlich, wie man sich erinnern wird, laut Takamine, Juhler und Alfr. Jörgensen, in einen alkoholbildenden Sproßpilz mit Endosporenbildung (einen Saccharomyces) umgebildet werden können. Wir fanden aber, daß die Züchtung des Aspergillus Oryzae unter den unter den genannten Herren angebenen Bedingungen eine Hefezellenbildung nicht hervorruft.

Nachdem unsere obengenannte Mitteilung erschienen war, ist eine „note" von Sorel publiziert worden; dieselbe findet sich in „Comptes rendus". T. CXXI. No. 25. 16. Dezbr. 1895. p. 948 unter dem Titel: „Étude sur l'Aspergillus orizae". Ein Referat derselben ist in dieser Zeitschrift Bd. II. 1896. No. 4. gegeben worden. Wie Ref. am Schlusse seines Referats mitteilt, sind wir zu einem ganz anderen Resultate als Sorel gelangt.

Während Takamine, Juhler und Alfr. Jörgensen der Meinung sind, es seien die Konidien des Aspergillus Oryzae, welche in Saccharomyceszellen umgebildet werden, teilt Sorel ausdrücklich mit, er habe eine solche Umbildung der Konidien nicht beobachtet; er meint dagegen gesehen zu haben, daß das Mycelium des genannten Aspergillus sich teile und dadurch Hefezellen bilde; um aber diese Entwickelung hervorzurufen, verwendet er ein ganz anderes Verfahren als die obengenannten Herren. Seine Versuche bestehen darin, daß er in einem mit 0,003-proz. wasserfreier Flußsäure versetzten Malzaufguß Konidien von Aspergillus Oryzae aussäet. Die Züchtung geht in einem Pasteurkolben vor sich und die Mündung des umgebogenen Rohres des letzteren wird unter Wasser angebracht, so daß also, falls eine Luftentwickelung eintritt, ein Druck auf die Flüssigkeit in dem Kolben entsteht.

Nach dem Verlaufe von drei bis vier Tagen soll dann laut Sorel bei 25—27° C eine Gärung eintreten und die erwähnten Hefezellen gebildet werden. Dasselbe soll auch, wenn für die Züchtung ein mit 5-proz. Alkohol versetzter Malzaufguß verwendet wird, stattfinden; in diesem Falle soll aber die Luft in dem Kolben erneuert werden und die Hefezellenentwickelung nimmt eine größere Zeit (ca. 1 Monat) in Anspruch.

Ferner hat Sorel die vermeintlichen Hefezellen wieder in den Aspergillus entwickeln lassen. Nach seiner Erzählung geht dieses auf eine sehr leichte Weise vor sich: Man braucht nur die Hefezellen auf Reis auszusäen! Man sieht also, daß es an Behauptungen nicht fehlt.

Wie aus dem Vorhergehenden erhellt, steht Sorel, was Verfahren und entwickelungsgeschichtliche Resultate anbelangen, vollständig im Widerspruche mit Juhler und Jörgensen. Nur in einem Punkte sind sie einig: Aspergillus Oryzae entwickele Hefezellen, welche Alkoholgärung hervorrufen.

Aus den Mitteilungen Sorel's geht aber nicht hervor, inwieweit er Reinkulturen für seine Experimente verwendet hat; nur an einer Stelle spricht er von einer vermeintlichen solchen, nämlich wo er etwas Mycel auswäscht, um es von beigemengten Hefezellen zu befreien, ein Verfahren, das sich nicht für ein zuverlässiges Resultat und noch weniger um eine Reinkultur zu geben eignet. Auch da, wo er die aus dem Mycelium vermeintlich entwickelten Hefezellen auf Reis aussäet, macht er nicht größere Ansprüche auf ihre Reinheit; er sagt nur, er habe sich davon überzeugt, daß die Hefe „bien pure“ ist. Hat Sorel nicht Reinkulturen verwendet, so ist es eine leichte Sache, zu erklären, wie er seine Resultate erreicht hat. Mit seinem Arbeitsverfahren hätte er ebensogut auch eine Entwickelung von Bakterien aus dem Aspergillus und noch andere merkwürdige Entdeckungen machen können. Seine Mitteilung schließt er mit den folgenden Worten: „Ces observations constituant un cycle complet, l'origine de cette levure spéciale me paraît[1]) devoir être rapportée à l'Aspergillus orizae“. Es scheint also aus diesem hervorzugehen, daß er selbst nicht der Richtigkeit seiner Untersuchungen ganz sicher ist.

Wir haben Sorel's Versuche genau wiederholt und sind dem von ihm angegebenen Verfahren gefolgt, doch haben wir selbstverständlich eine Reinkultur, und zwar von dem typischen Aspergillus Oryzae, welcher aus Material von Takamine in Nordamerika isoliert war, angewendet. Das Resultat war, daß in keinem Falle unter den genannten Bedingungen weder eine Entwickelung von Hefezellen noch eine Gärung eintrat.

In den nur mit Flußsäure, aber nicht mit Alkohol versetzten Kolben, deren umgebogenes Rohr mit Wasser abgesperrt war, fand sich eine starke Luftentwickelung in der Flüssigkeit und auf der Oberfläche der letzteren ein feuchtes Mycelium, welches unter dem Mikroskope sich hie und da als stark aufgeschwollen zeigte. In den mit Alkohol versetzten Kulturen war die Entwickelung des Schimmelpilzes viel schwächer und es fand sich keine Lufterzeugung.

In unserer obenerwähnten vorläufigen Mitteilung sprachen wir am Schlusse derselben in aller Kürze aus, daß infolge der von uns bis damals erhaltenen Resultate in Betreff unserer Versuche über die vermeintliche Umbildung Dematium-ähnlicher Pilze in Saccharomyces wir nicht imstande waren, die Richtigkeit der Mit-

1) Von uns hervorgehoben.

teilungen Alfr. Jörgensen's bestätigen zu können. Wir sind jetzt zur Beendigung unserer zahlreichen Versuche gelangt und werden im folgenden eine kurze Mitteilung von den Resultaten geben, welche, wie früher erwähnt, die entgegengesetzten wie die von Jörgensen erhaltenen sind.

Wie man sich erinnern wird, gab Alfr. Jörgensen in dieser Zeitschrift. Bd. I. 1895. No. 9. p. 321. eine Mitteilung unter dem Titel: „Der Ursprung der Weinhefen". Später hat er in seiner Abhandlung: „Ueber den Ursprung der Alkoholhefen" (Berichte d. gärungsphysiolog. Laborat. v. Alfr. Jörgensen zu Kopenhagen. I. 1895) diese Mitteilung vervollständigt und u. a. einige Abbildungen gegeben, welche die obenerwähnte Erscheinung illustrieren sollen. Jörgensen ist der Ansicht, er habe in den obengenannten zwei Publikationen dargethan, daß die Weinhefearten, welche wir gewöhnlich mit dem Namen Saccharomyces ellipsoideus bezeichnen, nur eine Entwickelungsstufe Dematium-ähnlicher Pilze und nicht selbständige Organismen seien. Diese Behauptung ist indessen bekanntlich auch in früheren Zeiten von Anderen angeführt worden, aber immer ohne Beweise.

Die Frage ist, hat Jörgensen jetzt einen Beweis der genannten Behauptung gegeben? Die Antwort ist nein. Eine Menge von Thatsachen sprechen außerdem gegen die genannte Auffassung; hierzu gehören auch die von Chamberland und Pasteur am Schlusse der 70er Jahren gemachten Experimente.

In der ersten Abhandlung spricht Jörgensen aus, daß es sich nicht um eine einzelne Dematiumspecies handelt und daß es ein leichtes sein soll, dieselbe aufzufinden und zur Entwickelung von Saccharomyceszellen zu bringen. Wenn das Experiment dennoch früheren Forschern nicht gelang, dann rührt es daher, sagt Jörgensen, daß sie nicht „natürliches Substrat" für die Züchtung verwendet haben. Hierzu muß zuerst bemerkt werden, daß Jörgensen's „natürliches Substrat" sterilisierte Trauben sind, also nicht ein natürliches, sondern ein künstliches Substrat.

Was übrigens den Inhalt der ersten Mitteilung von Jörgensen betrifft, so verweisen wir auf diese Zeitschrift. In seiner zweiten Mitteilung finden sich, wie gesagt, einige Abbildungen hinzugefügt, welche mit ein paar Worten erwähnt werden sollen. Diejenige Figur, welche die vermeintlichen Dematiumsporen darstellt (Fig. 7) zeigt, daß dieselben sehr ungleichartig sind. Aus der Zeichnung erhellt nicht, inwieweit sie wirklich Sporen sind. Dematiummycel mit Fetttröpfchen kann z. B. ganz dasselbe Bild annehmen. Die zwei Figuren (Fig. 8 u. 9), welche die Keimung der „Schimmelsporen", darstellen sollen, sind uns unverständlich, besonders Fig. 9. In Fig. 8 sieht man keine Sporen in Keimung begriffen, nur die sogenannten Mutterzellen in Sprossung; sie illustriert nichts.

Wir werden hier nicht die vielen Möglichkeiten besprechen, welche man sich als Ursache denken kann, daß Jörgensen auf die von ihm publizierten Behauptungen gekommen ist, sondern nur auf diejenige Möglichkeit aufmerksam machen, daß Jörgensen einen

mycelbildenden Saccharomyces mit seinem vermeintlichen sporenbildenden Dematium verwechselt habe; es ist ja eine bekannte Sache, die Hansen schon seit lange dargethan hat, nämlich, daß mehrere Saccharomyceten sowohl in den von ihnen entwickelten Häuten auf Flüssigkeiten als auch besonders auf festen Nährböden eine Mycelbildung geben können, namentlich solche Formen, wie Sacch. Ludwigii, Sacch. Marxianus und Sacch. membranaefaciens. Wir haben selbst auf Früchten eine Art gefunden, die in den Zellen ihrer mycelähnlichen Vegetationen eine reichliche Menge von Sporen bildete. Saccharomycesarten, welche auf festem Nährboden die Fähigkeit besitzen, leicht Mycelium und in dessen langgestreckten Zellen Sporen entwickeln zu können, scheinen überhaupt nicht selten zu sein. Diese unter besonderen Züchtungsverhältnissen in Dematium-ähnlichen Gestalten auftretenden Saccharomyces sind und bleiben indessen, soweit alle Untersuchungen bis jetzt gehen, nichts anders als Saccharomyces. Auch Will's eingehende Untersuchungen aus den neuesten Zeiten über Hautbildungen bei Brauereihefen gehen ganz in dieser Richtung.

Die Anweisungen, welche in Jörgensen's zwei Abhandlungen gegeben werden, sind klar und deutlich und infolgedessen leicht zu befolgen. Da Jörgensen mitteilt, er habe nicht allein auf Trauben, sondern auch auf anderen Früchten die erwähnten Dematium-ähnlichen Pilze gefunden, haben wir nicht allein unsere Versuche mit Trauben als Nährsubstrat und den auf den Trauben lebenden Dematium-ähnlichen Pilzen als Versuchsobjekt angestellt, sondern auch mit Kirschen, Stachelbeeren und Pflaumen und den auf diesen Früchten lebenden Formen.

Für unsere Versuche mit Trauben empfingen wir solche von den Herren Dr. Seifert, Klosterneuburg, Dr. Forti, Perugia und Dr. Eckenroth, Ludwigshafen; wir ergreifen hier die Gelegenheit, auch öffentlich den genannten Herren unseren besten Dank für ihr Entgegenkommen auszusprechen. Gleich nach dem Empfange untersuchten wir die Vegetationen, welche sich auf den genannten Trauben fanden, und in den weitaus meisten Fällen fanden wir auf denselben typische Dematium, Dematium-ähnliche Pilze und Cladosporium, auch nicht selten Chalara, Oidium, Aspergillus, Sterigmatocystis und Penicillium. Die Trauben wurden dann auf verschiedene Weise in feuchten Glocken angebracht, nämlich auf feuchtes Filtrierpapier, entweder in einer kleinen Glasschale mit Glasdeckel oder in einer Kochflasche mit Baumwolleverschluß und mit Filtrierpapier überbunden. Wir trugen immer, wie Jörgensen verlangt, Sorge dafür, daß die Feuchtigkeit eine mittlere und die Temperatur von 20° bis 25° C war. Auf diese Weise wurden im Laufe des Herbstes und Winters ca. 250 Trauben aus Oesterreich, Italien und Deutschland behandelt. Aber nicht ein einziger der zahlreichen auf diesen Trauben anwesenden Dematium-ähnlichen Pilze entwickelte Endosporen. Dasselbe galt auch von den anderen obengenannten Formen, welche zugegen waren. Die Züchtung dauerte von 2 Wochen bis 2 Monaten.

Dieselben Versuche wurden auch mit Kirschen, Stachelbeeren und Pflaumen gemacht, gaben aber auch dasselbe negative Resultat.

Wir bekamen also in dieser Weise in keinem Falle ein positives Resultat im Sinne Jörgensen's, obgleich wir dem von ihm angegebenen Verfahren genau folgten; dieses Resultat unserer Untersuchungen spricht also gegen die Richtigkeit seiner Mitteilungen, um so viel mehr, als die genannte Erscheinung, ihm selbst zufolge, eine allgemeine und leicht hervorzurufende sein sollte.

Die obenstehenden Versuche wurden mit unreinen Kulturen nach Jörgensen's Verfahren angestellt; da er aber auch in seiner ersten Abhandlung sagt, dasselbe finde mit Einzellenkulturen statt, so unternahmen wir auch eine große Reihe von Experimenten mit Reinkulturen Dematium-ähnlicher Pilze, welche von Trauben, Kirschen, Stachelbeeren und Pflaumen durch Hilfe von Plattenkulturen in Gelatine und Saft der betreffenden Frucht isoliert waren. Die Züchtung dieser Vegetationen geschah auf den betreffenden durch Wärme sterilisierten Früchten, welche in Kochflaschen auf feuchtem Filtrierpapier angebracht waren. Diese Kochflaschen standen in feuchten Glocken. In allem arbeiteten wir mit folgenden von verschiedenen einzelnen Früchten isolierten Kulturen, nämlich: 16 Vegetationen von Dematium und einer größeren Anzahl von Cladosporium von Trauben, 8 von Dematium und 5 von Cladosporium von Kirschen, 3 von Cladosporium von Stachelbeeren und endlich 3 von Dematium und 4 von Cladosporium von Pflaumen. Keine Versuchsreihe wurde indessen abgeschlossen, ehe die betreffende Frucht mit ihrer Vegetation in dem entsprechenden Fruchtsaft bei 25° C niedergelegt war; hier blieb sie 14 Tage. Denn man könnte sich ja denken, daß die gesuchte Sporenbildung unserer Aufmerksamkeit entgangen wäre, und da nach Jörgensen's Mitteilung diese Sporen gerade die Mutterzellen der Saccharomyceszellen seien, müßten sie also in dem Safte eine Vegetation von solchen bilden und zugleich Gärung hervorrufen. In keinem Falle fanden wir indessen Dematium-ähnliche Pilze mit Endosporen und in keinem Falle rief die Kultur eine Entwickelung oder Gärung von Saccharomyces in dem Fruchtsafte hervor. Wir können außerdem hinzufügen, daß die Züchtung auf verschiedene Weise unternommen wurde, nämlich teils durch mehrmaliges Ueberimpfen von der einen sterilisierten Frucht zur anderen, teils in der Weise, daß die Vegetation auf derselben Frucht mehrere Wochen hindurch in Ruhe blieb. Das Resultat war also dasselbe wie mit den unreinen Kulturen.

Da Jörgensen ausdrücklich die Notwendigkeit, ein natürliches Substrat anzuwenden, hervorhebt, eine Forderung, welche das von ihm angewendete Substrat indessen nicht erfüllt, wie wir im vorhergehenden gesehen haben, so gingen wir noch einen Schritt weiter als er, indem wir in einer großen Versuchsreihe ein wirklich natürliches Substrat anwendeten, nämlich reife Trauben, welche nicht sterilisiert waren und welche im unreifen Zustande, während sie noch im Treibhause auf den Reben saßen, in mit Baumwolleverschluß versehenen Bechergläser eingeschlossen wurden, so daß sie vor

Infektion von außen geschützt waren. Sowohl Gläser als Baumwolle wurden im voraus sterilisiert. Wenn diese Trauben reif geworden waren, fanden sich auf ihnen nur sehr wenige Pilze, und unter diesen niemals Saccharomyces. Ferner verwendeten wir für das Aussäen unserer Reinkulturen von Dematium-ähnlichen Pilzen auch andere frische Trauben, welche mehrmals mit sterilem Wasser sorgfältig abgespült waren. Diese Experimente wurden auch nicht abgeschlossen, ehe die betreffenden Kulturen mit Traubenmost für eine eventuelle Saccharomyces-Entwickelung versetzt waren. In beiden Fällen hatten wir also ein wirklich natürliches Substrat, das Resultat wurde aber, wie in den früheren Versuchen, ein ganz negatives.

Zuletzt werden wir eine sehr große Versuchsreihe erwähnen, welche im Laufe des Sommers und des Herbstes ausgeführt wurde. Die Idee zu dieser stammt von Chamberland[1]) und Pasteur[2]), indem nämlich der erste dieser zwei Forscher, um Aufschlüsse zu bekommen, inwieweit die auf den reifen Trauben gewöhnlich anwesenden Weinhefezellen anderen Pilzformen ihren Ursprung verdanken oder nicht, die noch nicht reifen auf den Reben wachsenden Traubenbüschel in Glasbehälter einschloß; Pasteur dagegen ging noch weiter, indem er zu demselben Zwecke ein Glashaus, in welchem die Verhältnisse ganz wie im Freien waren, über die ganze Rebe baute. Durch diese Versuche wurde konstatiert, daß Dematium sowohl auf den Trauben im Freien als auf den eingeschlossenen Trauben sich fanden, die Saccharomyces aber nur im Freien; die eingeschlossenen Trauben riefen keine Gärung hervor, wenn sie zerdrückt wurden. Hieraus ziehen beide den Schluß, daß die Saccharomyces sich nicht aus den auf den Trauben anwesenden Vegetationen von Dematium und anderen Schimmelpilzen entwickeln, da in diesem Falle Saccharomyces auf den eingeschlossenen Trauben auch gefunden werden müßte, was aber, wie gesagt, nicht der Fall war.

Wir haben diese Absperrungsversuche mit einigen Verbesserungen des Apparates wiederholt. Die ersten Früchte, mit welchen wir unsere Experimente in dieser Hinsicht machten, waren Kirschen. Für diesen Zweck wandten wir einen besonders konstruierten Glaskasten an, in welchem ein ganzer Ast mit unreifen Kirschen eingeschlossen wurde. Die Verhältnisse im Innern des Kastens entsprachen übrigens ganz den natürlichen. Die Absperrung dauerte so lange, bis die Früchte völlig reif oder sogar geborsten waren. Das Resultat des ersten Versuches war, daß wir unter allen 17 in dem Kasten entwickelten Kirschen nicht eine einzige fanden, auf welcher Saccharomyces anwesend war, während wir unter 30 im Freien auf denselben Bäumen entwickelten Kirschen Saccharomyces auf 4 fanden, d. h. auf

---

1) Ch. Chamberland, Recherches sur l'origine et le développement des organismes microscopiques. Thèse. Paris 1879. p. 76.

2) Pasteur, Examen critique d'un écrit posthume de Claude Bernard sur la fermentation. Paris 1879. p. 68.

13,3 Proz. Auf allen, sowohl freien als eingeschlossenen, fanden sich Dematium und Dematium-ähnliche Pilze in Fülle.

An den Pflaumenbäumen konnten wir leider den obenerwähnten Kasten nicht aufstellen; wir mußten hier uns auf große Pulvergläser und konische Kochflaschen beschränken. Das Resultat dieser Versuche war: Unter 19 eingeschlossenen Pflaumen fanden wir auf keinen Saccharomyces; unter 20 nicht eingeschlossenen fanden wir Saccharomyces auf 10, d. h. auf 50 Proz. Auf so gut wie allen, sowohl eingeschlossenen als nicht eingeschlossenen, wurden Dematium und Dematium-ähnliche Pilze gefunden. Es folgt von selbst, daß wir auch in diesem Falle die eingeschlossenen Pflaumen völlig reif, ja sogar überreif werden ließen, ehe wir den Versuch unterbrachen; mehrere derselben waren zu diesem Zeitpunkte geborsten, so daß der süsse Saft hervortrat.

In betreff der Trauben mußten wir unsere Versuche in Treibhäusern anstellen. Da diese Treibhäuser sehr oft geöffnet wurden, so daß Wind und Staub leicht eindringen konnten, sahen wir uns auch hier zu weiterer Absperrung gezwungen. Dieselbe unternahmen wir mit Hilfe sterilisierter Bechergläser, in welchen die Traubenbüschel angebracht wurden und das Glas wurde dann mit sterilisiertem Baumwolleverschlusse versehen. Auf keiner einzigen auf diese Weise eingeschlossenen Traube fanden wir Saccharomyces, was dagegen mit einer im Treibhause frei hängenden Traube der Fall war. Die Absperrung, welche das Treibhaus gab, muß also eine ziemlich vollständige gewesen sein. Auf so gut wie allen Trauben fanden sich Dematium und Dematium-ähnliche Pilze.

Hätte wirklich Dematium Saccharomyceszellen entwickeln können, so könnten die Verhältnisse nicht besser gewesen sein als sie in unserem Glaskasten mit den Kirschen und in unseren Gläsern mit den Pflaumen und den Trauben waren. Während die Früchte im Freien auf denselben Bäumen seit lange von Insekten und Vögeln verzehrt waren, saßen unsere eingeschlossenen Früchte ungestört, vom Saft schwellend, bis sie barsten. Der Zeitpunkt für Saccharomycesbildung mußte dann gekommen sein, falls die auf den Früchten anwesenden Dematiumzellen überhaupt im stande wären, Saccharomyces entwickeln zu können. Eine solche Entwickelung erschien aber nicht.

Auf einem großen Teile dieser eingeschlossenen Früchte fanden sich außer den genannten Dematium-ähnlichen Pilzen auch Penicillium und Aspergillus. Falls letztere Formen im stande wären, Hefezellen entwickeln zu können, müßten dieselben auf den eingeschlossenen unter natürlichen Verhältnissen kultivierten Früchten gebildet worden sein, wenigstens wenn letztere am Ende in einer gärungsfähigen Flüssigkeit angebracht wurden. Wir bekamen aber in keinem Falle weder eine Gärung noch eine Hefeentwickelung.

Aus den im vorhergehenden mitgeteilten Resultaten unserer Untersuchungen geht also hervor, daß die Mitteilungen Alfred Jörgensen's über die Entwickelung von Saccharo-

myceszellen aus Dematium-ähnlichen Pilzen unrichtig sind. Durch Nachprüfung des von ihm angegebenen Züchtungsverfahrens zeigt sich die genannte Erscheinung nicht, ebenso auch nicht, wenn man ein natürliches Substrat anwendet, selbst in Verbindung mit Absperrung in der Natur.

Auch andererseits haben die von Takamine, Juhler und Jörgensen angeführten Behauptungen keine Bestätigung gefunden. Zur Einführung in unsere Abhandlung teilt Prof. Dr. Wortmann (Geisenheim) uns freundlichst mit, daß „auch die von ihm angestellten Nachuntersuchungen der Publikationen von Juhler und Jörgensen über Aspergillus und von Jörgensen über Dematium ein durchaus negatives Ergebnis gehabt haben.“ Daß Cohn, Büsgen, Wehmer, Kosai und Yabe zu demselben negativen Ergebnis kamen, haben wir schon in unserer ersten Mitteilung erwähnt.

Nachdem das obenstehende schon geschrieben war, erschien eine neue Mitteilung von Alfr. Jörgensen in dieser Zeitschrift No. 2/3. 1896. Bd. II. p. 41. mit dem Titel: „Ueber Pilze, welche Uebergangsformen zwischen Schimmel und Saccharomyceshefe bilden und die in der Brauereiwürze auftreten.“ Der Hauptinhalt dieser Mitteilung besteht in einer Beschreibung eines Oïdium-artigen Schimmelpilzes, welcher sich dadurch auszeichnet, daß er z. B. durch Züchtung auf Bierwürze, in welcher er doch keine Gärung hervorruft, eine aus Sproßzellen bestehende Haut bildet; unter diesen Zellen finden sich einige, welche sehr stark lichtbrechend und mit derben Wänden versehen sind. Impft man eine solche Hefevegetation auf feuchte Gypsblöcke über, so soll nach einigen Tagen aus gewissen Zellen eine oder zwei Zellen austreten. Derselbe Vorgang soll auch in der Hautbildung auf Dextrose-Hefewasser in Freudenreich-Kolben stattfinden. Wir haben diese endogene Zellenbildung nicht beobachten können. Jörgensen ist der Meinung, daß diese Mutterzellen als eine Art Dauerzellen aufzufassen sind. Wir haben rücksichtlich des morphologischen Wertes dieser Gebilde, wie oben angedeutet, eine andere Auffassung, welche wir in einer späteren Mitteilung darlegen werden.

Diese Oïdium-artige Form faßt er als eine Uebergangsform zwischen Schimmelpilz und Saccharomyces auf. Mündlicher Mitteilung zufolge meint er nämlich nicht mit der Bezeichnung „Uebergangsform“, daß der genannte Pilz Saccharomyceszellen entwickele, sondern er braucht das Wort nur in morphologisch-vergleichender Bedeutung, mit besonderer Rücksicht auf die obenerwähnten chlamydosporenähnlichen Bildungen. Hier ist also nur die Rede von supponierten und nicht von reellen Uebergangsformen.

Die genannte Mitteilung erschien ungefähr gleichzeitig auf Dänisch in der von Jörgensen redigierten „Zymotechnisk Tidsskrift“ (Zymotechnischen Zeitschrift“) No. 1. Kopenhagen 1896; eine Nachschrift ist indessen hier an sie geknüpft. In dieser Nachschrift teilt Jörgensen mit, daß er keine Methode zur Entwickelung von Saccharomyceszellen, weder aus Aspergillus noch aus Dematium und ähnlichen Pilzen hat, und daß die

Umbildung von Schimmelpilzen in Saccharomyces, die er beobachtet zu haben meint, nur Zufälligkeiten, über welche man noch nicht Herr ist, beigemessen werden muß. Nach seiner eigenen Aussage fehlt es ihm also ganz an Beweisen. Auch Juhler hat selbst im Briefe an uns dasselbe anerkannt. Wenn Jörgensen zugleich eben daselbst sagt, daß seine Abteilungsvorstände und Assistenten die genannten Erscheinungen beobachtet haben werden, so ist dies doch nicht ein wissenschaftlicher Beweis. Wir haben selbstverständlich nie daran gezweifelt, daß sowohl Jörgensen wie die genannten Herren in Präparaten Dinge beobachtet haben können, welche den betreffenden Erscheinungen ähneln und wie dieselben aussehen.

Aus den verschiedenen Mitteilungen Jörgensen's geht hervor, daß er das Hauptgewicht auf die mikroskopische Untersuchung und die Kombination gelegt hat, also nicht auf das entscheidende Experiment mit der absoluten Reinkultur. Hierin dürfte der Hauptgrund davon liegen, daß ein so kenntnisreicher Mikrobiologe, wie er, sich geirrt hat. Er teilt übrigens darin, wie bekannt, das Schicksal mehr als eines berühmten Namens. Die Saccharomyces haben mehrmals die Rolle der trügerischen Sirenen gespielt.

Wir hätten überhaupt nicht die im vorhergehenden erwähnten Untersuchungen angefangen, wenn Juhler allein aufgetreten wäre. Da aber der älteste Schüler Hansen's, der Verfasser eines ausgezeichneten Lehrbuches, wie „Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie", die Mitteilungen Juhler's bestätigte und neue in derselben Richtung hin gab, lag darin eine Aufforderung, der Frage näher zu treten. Es hat sich jetzt erwiesen, daß die neuen ebenso gut wie die alten Angaben von der Entwickelung von Saccharomyces aus Schimmelpilzen auf einem Irrtum beruhen.

Die Einzelheiten unserer Experimente werden beschrieben, ebenso wie dazugehörige Apparate beschrieben und abgebildet werden in einer ausführlicheren Abhandlung in dem „Compte rendu du Laboratoire de Carlsberg", in welcher wir auch gleichzeitig die Frage einer Behandlung von verschiedenen anderen mehr umfassenden Gesichtspunkten aus unterwerfen werden.

Carlsberg Laboratorium, März 1896.

Die künstliche Säuerung des Hefegutes der Brennereien.

[Aus dem Physiolog. Laboratorium der Kgl. Versuchsstation für Gärungsgewerbe zu Hohenheim in Württemberg.]

Von

Dr. **Franz Lafar,**

Privatdocenten und Assistenten der Station.

In Hinsicht auf die Gewinnung der zur Durchführung der Gärung nötigen Anstellhefe hat es die Brennerei nicht so leicht als ihr Schwestergewerbe, die Brauerei. Im regelmäßigen Betriebe dieser letzteren bedarf es keiner besonderen Arbeit, um die nötige Menge von Hefe heranzuzüchten, sondern dieselbe setzt sich nach beendigter Gärung auf dem Boden des Bottiches ab und kann dann, sobald man das darüber stehende junge Bier abgezogen hat, sofort wieder verwendet werden, um frische Würze damit „anzustellen". — Anders in der Brennerei. Hier wird nicht eine dünne, sich abklärende Flüssigkeit (Würze) vergoren, sondern eine dicke Maische, in welcher die Hefe nicht vermag sich abzusetzen. Der Brenner ist also gezwungen, seine Anstellhefe auf andere Art sich zu verschaffen; er pflegt dieselbe in besonderen Gefäßen künstlich heranzuzüchten und nennt sie deshalb Kunsthefe. Er stellt in einem kleinen Bottich (Hefengefäß) eine süße Maische her in einer Menge, welche ungefähr zehn Prozent der zu vergärenden Hauptmaische ausmacht. Bevor dieselbe mit der zu vermehrenden Hefe versetzt wird, muß sie noch einer Vorbehandlung unterzogen werden, das ist die Säuerung. Diese nun ist der Gegenstand, mit dem die nachfolgenden Zeilen sich beschäftigen.

Auf dem Grünmalze, das mit zur Bereitung dieser Maische dient, sitzt eine reiche Flora von verschiedenartigen Bakterien, von denen in erster Linie die widerstandskräftigen Erreger der Buttersäuregärung in Betracht kommen. Deren Sporen werden durch die Maischtemperatur nicht getötet. Ein darüber hinaus gehendes Erhitzen vermeidet man mit Rücksicht auf die zu schonende Diastase auch späterhin. Die bezeichneten Sporen würden nun in der Folge auskeimen und die Entwickelung und Vermehrung der Hefe, auf die es doch abgesehen ist, stark beeinträchtigen, denn die Buttersäure ist ein kräftiges Hefegift. Nun sind aber diese Schädlinge selbst ziemlich empfindlich gegen Säuren überhaupt und die Milchsäure insbesondere. Man wird somit deren Aufkommen verhindern, wenn man dafür Sorge trägt, daß die frische Hefenmaische rasch eine stark saure Reaktion annimmt. Um dies zu erreichen, ruft man die Milchsäure-Bakterien zu Hilfe.

Wie aber die letzteren züchten, ohne daß die zu bekämpfenden Widersacher ihnen den Rang ablaufen? — Das Hilfsmittel hierzu ist die Einhaltung einer begünstigenden Temperatur. Diese liegt für die Buttersäurebakterien bei ungefähr 40° C, für die hier in Betracht kommenden Arten von Milchsäurebakterien hingegen zwischen 47 und

52° C. Wir halten also unsere süße Hefenmaische bei annähernd 50° C.

Nun sind aber anderseits die Milchsäurebakterien sehr empfindlich gegen die Temperatur von 70° C, bis zu welcher vorher aufgemaischt worden war und bei welcher man die Maische zum Zwecke der Verzuckerung durch ungefähr zwei Stunden gehalten hat. Aus diesem Grunde werden in dem Augenblicke, wo der Inhalt des Hefebottichs wieder auf 50° C herabgekühlt ist, darin nur wenige Milchsäurebakterien im lebenskräftigen Zustande vorhanden sein und zwar jene, welche der Erwärmung auf 70° C nicht ausgesetzt waren, sei es, daß sie erst nachher mit dem Rührscheit hineingelangen oder aus der Luft in den Bottich fallen u. s. w. Es läßt sich so voraussehen, daß die Säuerung gar oft recht mangelhaft oder fehlerhaft ausfallen muß. Dieser Uebelstand wird sich ganz besonders zu Beginn der Campagne bemerkbar machen, wo die Milchsäurebakterien, welche das Eintrocknen nicht gut vertragen, in der Hefenkammer sozusagen ausgestorben sind, so daß also in die zu säuernde (die lebenden Sporen der Buttersäurebakterien enthaltende) Hefenmaische verhältnismäßig nur wenige Milchsäurebakterien von außen hineingelangen. Und in der That, wer mit der Praxis der Spiritusbrennerei beruflichen Verkehr hat, der weiß, daß gerade zu Beginn der Campagne die Hefekammer der Sorgenwinkel des Brennmeisters ist. Gar nicht selten kann man dort schon beim Eintritte am Geruche erkennen, daß im Hefenbottich die bösen Buttersäurebakterien das Feld beherrschen. — Mit einem Worte: Bisher hat man bei der Säuerung des Hefengutes auf den guten Zufall vertrauen müssen.

Dem kann man nun mit einem Schlage abhelfen, wenn man von Anfang an die Säuerung in die gewünschte Bahn leitet, dadurch, daß man die verzuckerte und auf 50° C wieder herabgekühlte Maische mit einer genügenden Menge der Reinkultur einer ausgewählten Rasse von Milchsäure-Bakterien versetzt.

Die Species, um die es sich dabei handelt, hat nach meinen Untersuchungen, mit jenen bisher beschriebenen Arten, welche an der Säuerung der Milch beteiligt sind, wohl die Eigenschaft gemein, Zucker zu verarbeiten und Milchsäure abzuspalten, allein sie unterscheidet sich von diesen in mehr als einer Hinsicht. So z. B. vermögen die bisher daraufhin untersuchten (aus saurer Milch u. dgl. stammenden) Arten unter den zuvor gekennzeichneten Umständen in Maische überhaupt gar nicht oder nur höchst spärlich sich zu entwickeln und Säuerung hervorzurufen. Auch in morphologischer Hinsicht merkt man sofort ganz auffällige Unterschiede: Den Zellen dieser neuen Species sind langgestreckte Wuchsformen eigen, Langstäbchen und Fadenzellen. Es sei dieser Mikrobe als Bacillus acidificans longissimus bezeichnet. Nähere Angaben über seine Morphologie, Physiologie und Biologie seien einer späteren Mitteilung vorbehalten.

Hier sollen nur noch einige Angaben über seine Tauglichkeit für den beabsichtigten Zweck angeschlossen werden. Die hiermit auszusprechende Empfehlung, die Säuerung der Hefenmaischen mit Hilfe von Reinkulturen durchzuführen, stützt sich nicht bloß auf Labora-

toriumsversuche, sondern bereits auch auf Erfahrungen des praktischen Betriebes. Die auf die Erforschung der Lebensverhältnisse dieses Bacillus gerichteten Studien reichen bis in das Jahr 1893 zurück. Sie waren im Herbste 1894 so weit gediehen, um in der Campagne 1894—95 in der Brennerei zu Hohenheim die ersten Versuche damit im praktischen Betriebe anzustellen. So konnten wir dann wohlgerüstet in die Campagne 1895/96 eintreten. Dieselbe ist vor einigen Tagen (10. März cr.) beendigt worden. Während derselben wurde ausschließlich mit diesem Bacillus gesäuert. Der mit der Praxis der Brennerei vertraute Leser — welcher den alten Erfahrungssatz der Brennmeister kennt: „viel Säure in der Hefe, wenig Säure im Bottich" — wird gewiß mit Befriedigung hören, daß der Säuregehalt der vergorenen Hefenmaische mit Hilfe dieses Bacillus selbst bei auch nur annähernd sorgfältiger Behandlung ohne Schwierigkeit auf 3,4 Grade sich bringen läßt, daß also 20 ccm der Probe dann zur Neutralisierung 3,4 ccm Normallauge gebrauchen. Die Säurezunahme der vergärenden Hauptmaische hielt sich meist unter 0,2 Grade und überschritt diese Grenze die ganze Campagne hindurch nicht ein einziges Mal.

Damit ist nun die gestellte Aufgabe gelöst, die künstliche Säuerung des Hefengutes als praktisch durchführbar erwiesen und so der Verwendung rein gezüchteter Gärerreger ein neues Gebiet erschlossen.

Dieser erfreuliche Erfolg wäre nicht erreicht worden ohne die stete Förderung, welche mein verehrter Chef und Vorstand der Brennerei zu Hohenheim, Herr Prof. Dr. Paul Behrend, der Sache hat angedeihen lassen. Ihm dafür auch an dieser Stelle zu danken, ist nicht nur mein, sondern gewiß auch des Lesers Wunsch.

12. März 1896.

Zur Frage der Nitrifikation im Erdboden.

[Mitteilung der landw. Versuchsstation in Bonn.]

Von

R. Burri und A. Stutzer.

Mit 1 Tafel.

(Schluß.)

B. Reinzucht eines Nitrit bildenden Organismus.

Winogradsky sah sich bei seinen Bemühungen, aus Erde Nitrit-bildende Organismen zu isolieren, genötigt, zweimal das von ihm ursprünglich angegebene Verfahren abzuändern. Die Einzelheiten des Letzteren mögen in dem Referate über die diesbezüglichen Arbeiten genannten Verf. in diesem Centralblatt Bd. I. No. 1 nachgesehen werden. Mit Verwendung der Kieselsäuregallerte schien die Isolierungsarbeit bedeutend vereinfacht zu sein. Winogradsky selbst sagt

darüber[1]): „Wenn man eine Spur Erde in das Kieselsäuregemisch überträgt, wird man bald das aktive Mikrobium gefunden haben. Es ist indessen vorzuziehen, vorher durch eine Spur Erde in einer Nährlösung Nitrifikation einzuleiten und von da aus die erste Uebertragung auf den festen Nährboden zu bewerkstelligen. In diesem Falle sind alle Kolonieen, welche erscheinen, absolut von derselben Art.“ Zahlreiche Mißerfolge belehrten uns, daß bei unserem Material die Verhältnisse doch nicht so einfach lagen. Immer waren es verschiedene andere Bakterienarten, welche bei einigermaßen dichter Besäung die Platte bald überwucherten, bei spärlicher Besäung hingegen allein vertreten waren.

In den meisten Erdproben, die wir untersuchten, war auch ein schimmelpilzartiger Organismus, anscheinend zu Dematium gehörend, vorhanden, der sich namentlich in länger fortgeführten Kulturen sehr unangenehm bemerkbar machte. Er bildet in flüssigen Kulturen kleine crêmefarbene schwimmende Kolonieen, die oft so zahlreich auftraten, daß sie eine zusammenhängende Decke bildeten. Verimpfte man aus einer derartigen Kultur eine Spur Flüssigkeit auf frische für den Nitritbildner bestimmte Nährlösung, so kamen die schwimmenden Kolonieen bald wieder zum Vorschein. Auf Kieselsäureplatten bildete der Organismus sich schnell ausbreitende hautartige Ueberzüge, die eine einwandsfreie Abimpfung vorhandener Bakterienkolonieen unmöglich machten. Auf Gelatine und Agar gedieh der Pilz vorzüglich und zwar namentlich auf Agar, unter Entwickelung eines prachtvoll roten Farbstoffs.

Es könnte der Einwand erhoben werden, daß durch peinlichste Reinigung der für die Nährlösung verwendeten Substanzen von organischen Körpern der geschilderte sowie andere verunreinigende Pilze hätten unterdrückt werden müssen. Es geht aber aus Winogradsky's Angaben hervor, daß diese Reinigung, wie überhaupt die Reinigung durch successive Kulturen nach Einführung der Kieselsäuregallerte in Wegfall kommen konnte. Die von uns bei Herstellung der Nährflüssigkeiten verwendeten Salze waren sämtlich reinste Präparate von Merck-Darmstadt bezogen, und daß nur destilliertes Wasser verwendet und auf die Reinigung der benutzten Glasgefäße besondere Sorgfalt verwendet wurde, bedarf wohl kaum angeführt zu werden. Daß eine Isolierung des Nitritbildners in oben angegebener Weise unter gewöhnlichen Umständen kaum möglich ist, hat Winogradsky später selbst zugegeben. In seinen Untersuchungen über die Morphologie der Organismen der Nitrifikation[2]) sagt derselbe: „Für Isolierungszwecke ist es absolut unerläßlich, sich als Aussaatmaterial der Monaden und nicht der Zooglöen zu bedienen.“ Mit dieser Forderung wird die Zahl der Kulturen, welche man für Isolierungszwecke verwenden könnte, unter Umständen sehr eingeschränkt. Nach Winogradsky unterliegt das Auftreten von schwärmenden Formen großen

1) Annales de l'Inst. Pasteur. 4me mém. T. V. 1891.

2) Archives des sciences biologiques publ. par l'Inst. imp. de méd. expér. à St. Pétersbourg. T. I. 1892.

Unregelmäßigkeiten und kann oft in langen Kulturserien ganz ausbleiben. Andererseits soll es vorkommen, daß während längerer Zeit in den fortgeführten Kulturen immer nur die beweglichen Monaden, aber keine Zooglöen zu sehen sind. Daß Kulturen der letzteren Art sich einzig eignen, um mittelst des Kieselsäure-Plattenverfahrens eine Trennung der Keime zu erzielen, leuchtet ein. Es bleibt nur noch abzuwarten, wie oft der Zufall uns so beschaffene Kulturen in die Hände spielt. Das Auftreten der beweglichen Formen soll sich nach Winogradsky schon dem bewaffneten Auge durch eine schwache Opalescenz der sonst klaren über der Karbonatschicht befindlichen Flüssigkeit verraten. Unsere Versuchsgefäße, Glasdosen von ungefähr 9 cm Durchmesser und senkrechter Wandung schienen von günstiger Form, um eine Opalescenz, bzw. Trübung leicht erkennen zu können. Trotzdem ist es uns an zahlreichen Kulturen nie gelungen, durch einfache Okularbetrachtung eine Veränderung in der Durchsichtigkeit der Nährlösung wahrzunehmen. Um uns diese Aufgabe zu erleichtern, stellten wir eine gut oxydierende Kulturserie nicht in den Thermostaten, sondern frei vor das Zimmerfenster und bedeckten die Gefäße mit einem dichten Tuche zum Schutze gegen direktes Sonnenlicht. Die Oxydation ging, wenn auch verzögert, zu Ende, aber auch unter diesen günstigsten Beobachtungsbedingungen war das Auftreten einer Trübung nicht zu bemerken. Die letztere sollte uns übrigens nur das Vorhandensein des beweglichen Stadiums des zu isolierenden Nitritbildners anzeigen. Nun aber, so überlegten wir, muß die Zahl der schwärmenden Individuen schon eine sehr bedeutende sein, wenn sie eine dem bloßen Auge sichtbare Trübung in der Kulturflüssigkeit hervorrufen soll. Ist dazu die Anzahl zu gering, so kann eine Untersuchung im hängenden Tropfen noch Aufschluß über vorhandene Bewegung bei scheinbar vollständiger Klarheit der Nährlösung geben.

Die ersten, täglich wiederholten Prüfungen auf bewegliche Formen durch eine Untersuchung im hängenden Tropfen wurden an der ersten Tochterkultur der Probe IIa unternommen. Aus früher angegebenen Gründen war hier wenig Aussicht auf Erfolg. Besser eignete sich eine Serie von Stammkulturen vom 1. Mai 1894 mit Bonner Gartenerde geimpft. Am 6. Tage nach der Impfung war deutliche Nitritreaktion vorhanden und 14 Tage nach der Impfung sämtliches Ammoniak verschwunden. Während dieser Zeit wurde jeden Tag aus jeder Kultur ein Präparat im hängenden Tropfen angefertigt, so daß einigermaßen zahlreich auftretende bewegliche Formen der Untersuchung nicht hätten entgehen können. Der Erfolg dieser täglichen Prüfungen war ein durchaus negativer. Für den 8. Mai, also 7 Tage nach der Impfung und kurz nach Beginn der oxydierenden Thätigkeit, lauten unsere Notizen:

Kultur B 1 im hängenden Tropfen eine bewegliche Form im ganzen Präparat,
„ B 2 ebenso,
„ B 3 keine beweglichen Formen vorhanden,
„ B 4 ebenso.

Für die folgenden Tage bis zum 14. nach der Impfung sind ungefähr gleichlautende Befunde verzeichnet. Und doch waren die

fraglichen Kulturen solche, die bezüglich Schnelligkeit der Oxydation als normal bezeichnet werden mußten. Es spricht diese Thatsache dafür, daß die Lebhaftigkeit der Ammoniakoxydation, entgegen den Beobachtungen von Winogradsky, in unseren Kulturen keineswegs in einem direkten Zusammenhange stand mit dem Vorhandensein schwärmender Individuen des Nitritbildners. An Kulturen, welche durch immer wiederholte Ammoniakzugaben bis zur äußersten Grenze ihrer Leistungsfähigkeit gebracht worden waren, konnten wir später diese Behauptung bestätigt finden. Es handelte sich um die Stammkulturen III und IV vom 5. Jan. 1895, welche, wie Tabelle 3** nachweist, regelmäßig in 2 Tagen 20 mg oder sogar in 3 Tagen 40 mg Ammonsulfat oxydierten. In der Zeit vom 10. bis zum 20. April wurden täglich mikroskopische Prüfungen vorgenommen, aber nur ein einziges Mal konnten in Kultur IIIb Bewegungszustände wahrgenommen werden, welche uns den lange erwarteten Eintritt des schwärmenden Stadiums einzuleiten versprachen. Im Innern und auch am Rande von Kokkenhaufen, die unzweifelhaft aus dichten Zoogloen hervorgegangen waren, zur Zeit der Beobachtung aber jeden Zusammenhang verloren zu haben schienen, zeigten nämlich einzelne Kokken deutliche Ortsveränderungen, die nicht allein auf Brownsche Bewegung zurückzuführen waren. Wir hofften, daß die Erscheinung mit der Zeit noch deutlicher auftreten würde und untersuchten die gleiche Kultur nach Verlauf von 20 Stunden. Wir waren enttäuscht, denn jetzt war die Bewegung eine noch weniger ausgeprägte als am Tage zuvor und konnte thatsächlich von Molekularbewegung nicht unterschieden werden. Die Kultur oxydierte aber nach wie vor mit gleicher Schnelligkeit das zugesetzte Ammoniak und wurde noch oft auf Bewegungszustände geprüft, aber niemals mit positivem Ergebnisse. Wir fügen noch folgende, eine Nitrit bildende Kultur betreffende Notizen mit dem Datum des 27. Juni 1894 an: „Im hängenden Tropfen zahlreiche elliptische und kurzstäbchenförmige Elemente, worunter einige bewegliche; auch kugelrunde und elliptische aus solchem Elemente bestehende Konglomerate“. Von einer so ausgiebigen Bewegung, die eine dem Auge sichtbare Trübung der Kultur hätte hervorrufen können, konnte also auch in diesem Falle nicht die Rede sein. Die Isolierung eines Nitritbildners aus diesen Kulturen ist in der That nicht geglückt. Wir haben noch mehrere andere Kulturen dazu benutzt, um mittelst Kieselsäureplatten zu Reinkulturen des gesuchten Organismus zu gelangen, aber stets in vergeblicher Weise. In einer Beziehung waren uns die stetigen Mißerfolge erklärlich: Von über 100 seit Beginn unserer Arbeiten angelegten und beobachteten Nitritbildnerkulturen hatte sich keine einzige in demjenigen Zustande befunden, welchen Winogradsky als für Isolierungszwecke unumgänglich notwendig bezeichnet. Das ausnahmslose Vorherrschen des Zooglöenstadiums war übrigens für die Erdproben I bis IV nicht befremdend, weil dieselben, wie früher bemerkt, zur Zeit der Ankunft in unserem Laboratorium schon recht trocken waren und sich zum Teil mit den Fingern zu Staub zerreiben ließen. Winogradsky führt an, daß gerade solche Proben gerne Kulturen mit

Zooglöen lieferten, da der Organismus sich bei Mangel an Feuchtigkeit wahrscheinlich nur in Form solcher dicht gefügten Verbände am Leben erhalten kann. Für die Bonner Gartenerde fällt allerdings das Moment der Trockenheit weg, indem die Proben vollkommen feucht und frisch zur Verwendung gelangten.

Für die afrikanische Erde hat Winogradsky das ausschließliche Auftreten von Zooglöen beobachtet und glaubt darin eine Anpassungserscheinung an das trockene Klima dieses Erdteils zu erkennen.

So lange wir noch auf schwärmende Formen fahndeten, haben wir die Zooglöen in den Kulturen gelegentlich wohl bemerkt, ihnen aber keine weitere Beachtung geschenkt, weil wir die Bildung und Auflösung derselben an der Hand von Reinkulturen zu verfolgen gedachten.

Gewöhnlich findet man die Zooglöen im Bodensatz der Kulturen als mehr oder weniger kugelrunde, meist scheinbar strukturlose Gebilde von 10—50 μ Durchmesser, welche sich mit gewöhnlichen Anilinfarblösungen sehr intensiv färben. Unter Umständen finden sich aber auch Zooglöen an der Oberfläche der Nährflüssigkeit und zwar meist in einem von dem gewöhnlichen abweichenden Zustande. Wir wurden auf die Erscheinung zuerst bei einer Untersuchung im hängenden Tropfen bei Stammkultur IVb aufmerksam, zu einer Zeit, als die letztere schon mehr als 10mal 20 mg Ammonsulfat oxydiert hatte. In jedem Tröpfchen, daß sorgfältig von der Oberfläche der ruhenden Kultur entnommen wurde, fanden sich mehrere sofort als Nitritbildner-Zooglöen erkennbare kugelförmige Verbände, die nicht strukturlos schienen, sondern ganz deutlich einen Aufbau aus ziemlich kokkenförmigen Elementen erkennen ließen. Gleichzeitig war an der Oberfläche solcher schwach gelb gefärbter Kugeln eine mehr oder weniger deutlich ausgeprägte Felderung zu sehen, welche ihren Ursprung einem Liniensystem verdankte, welche die Art und Weise eines späteren Zerfalles der Zooglöen andeutete. Wir erblickten anfänglich in diesen Zooglöenbildnern mit deutlicher Struktur gewissermaßen einen Zustand der höchsten Entwickelung, der unmittelbar dem Freiwerden der einzelnen Individuen vorangeht, bzw. ein Bindeglied zwischen starrem Zoogloea- und Schwärmstadium bildet. Von Tag zu Tag wiederholte Untersuchungen im hängenden Tropfen ließen aber eine andere Gestaltung der Verhältnisse erkennen. Es fand allerdings diese erwartete Auflösung der Zooglöen in ihre Elemente statt, aber nur nach und nach im Sinne einer immer weitergehenden Lockerung des Zellverbandes. Eine Loslösung von Schwärmern aus dem Gesamtverbande wurde nie konstatiert, wohl aber eine Abtrennung von zahlreichen Einzelkokken auf rein passivem Wege, wie sie z. B. die Erschütterung des Tropfens, wenn er mittels Platinöse auf das Deckglas gebracht wird, hervorbringen kann, in den folgenden Tagen wurden die Zooglöen noch zahlreicher. Jedes kleinste Tröpfchen der Kulturoberfläche beherbergte mindestens ein Dutzend dieser in den verschiedensten Stadien der Auflösung begriffenen Gebilde. Neben kreisrunden und unverletzten Verbänden sah man solche mit tiefen Spalten im Innern, sodann kompakte Bruchstücke von größeren

Verbänden, daneben Tetraden, Diplokokken und Einzelkokken in Menge.

Photogr. 1 der Tafel II stellt eine in Auflösung begriffene Zoogloea des Nitritbildners aus Kultur IIIb vom 5. Jan. 1895 bei 1000facher Vergrößerung dar. Die durch direkte Impfung mit Erde angelegte Kultur enthält natürlicherweise noch eine Menge anderer Bakterienarten, die aber mit der Nitritbildnerkolonie, welche den größten Teil des Photogramms einnimmt, nicht zu verwechseln sind. Stellenweise ist mehr oder weniger deutliche Tetradenbildung zu sehen, was gegen die Stäbchennatur der fraglichen Organismen spricht. Wenn auch die Form des einzelnen Individuums sehr oft von der isodiametrischen bedeutend abweicht, so müßte doch die Thatsache, daß bei einzelnen derselben Teilung in 2 aufeinander senkrechte Ebenen erfolgt, jeden Zweifel über die morphologische Stellung des Nitritbildners ausschließen. Bekanntlich hat Winogradsky die von ihm untersuchten Nitritbildner in die Genera Nitrosomonas und Nitrosococcus geteilt. Bei der ersten Gattung, aus Erdproben der alten Welt stammend, hat genannter Forscher niemals Tetraden beobachten können, während die Nitritbildner Amerikas durch unzweifelhafte Kokken vertreten waren. Unsererseits wurden an den in passiver Auflösung begriffenen Kolonieen meist nur Formen gesehen, deren Umriß kreisförmig oder kurzelliptisch war, so daß wir geneigt wären, dieselben als echte Kokken aufzufassen, wenn nicht die gegenteiligen Beobachtungen Winogradsky's ein näheres Eingehen auf diese Seite der Frage erforderten. Da jedoch nur wirkliche Reinkulturen das Material zur Beurteilung dieser Verhältnisse liefern sollten und wir zur Zeit noch nicht im Besitze von solchen sind, so lassen wir dieselben vorläufig unerörtert.

Die Zooglöen fanden wir übrigens in sämtlichen Kulturen, die wir daraufhin untersuchten und zwar wurden in den aus deutschem Boden stammenden Kulturen keine erheblichen Unterschiede im Aussehen und Verhalten dieser Gebilde festgestellt. Uebereinstimmend zeigten dieselben in der Jugend kreisrunden Umriß und scheinbare Strukturlosigkeit, im Alter ohne jede Vorbehandlung deutliche Zusammensetzung aus rundlichen kokkenförmigen Elementen und nach und nach eintretenden vollständigen Zerfall. Etwas abweichend verhielten sich die Zoogloen aus afrikanischer Erde. Dieselben waren auch in jungen Kulturen meist nicht einzeln, sondern zu Konglomeraten von mehreren an Größe verschiedenen Kugeln vereinigt. Struktur und Zerfall ließen sich in älteren Kulturen nie so typisch sehen wie bei den deutschen Rassen.

Das vorhin erwähnte Auftreten von in vollständiger Auflösung begriffenen Zooglöen bestimmte uns, von neuem die Isolierung des Nitrit bildenden Organismus mittels des Kieselsäure-Plattenverfahrens zu versuchen. Das Prinzip der räumlich getrennten Fixierung der einzelnen kokkenförmigen Elemente war gewahrt, ob nun dieselben mit Eigenbewegung ausgestattet waren oder des Bewegungsvermögens entbehrten. Das Aussaatmaterial wurde der Stammkultur IIIb vom 5. Jan. entnommen, zu einer Zeit, als dieselbe mit vollster Intensität die jeweils zugegebenen Ammoniakmengen oxydierte. Jedes Tröpf-

chen der Oberfläche der ruhenden Kultur zeigte Hunderte der kreisrunden und elliptischen Gebilde und Konglomerate von solchen, allerdings auch zahlreiche, meist schlanke Stäbchen. Immerhin war zu erwarten, daß von den vielen Kolonieen, welche sich auf den Platten entwickeln würden, wenigstens eine den Ausgang von einem Coccus oder einem nicht mit Stäbchenarten verunreinigten Konglomerat von solcher nehmen würde. Die verwendeten Platten waren vor der Impfung bis zur Erstarrung hingestellt worden und von vorzüglicher Beschaffenheit. Von der Kultur wurden 3 Oesen in 10 ccm steriles Wasser übertragen, die Impfung der festen Gallerte geschah mittels des Zerstäubers. Im Laufe der Zeit kamen in günstiger Anzahl Kolonieen hervor, die sich nach ihrem Habitus und an der Hand der mikroskopischen Untersuchung mit Leichtigkeit auf mindestens 3 verschiedene Bakterienarten zurückführen ließen. Sämtliche Arten waren durch verhältnismäßig kleine Stäbchen vertreten, deren Nichtzusammengehörigkeit mit dem großen kokkenförmigen Organismus leicht zu erkennen war. Damit im Einklang stand der Umstand, daß die Platten noch 3 Wochen nach der Impfung keine Spur von Reaktion mit Diphenylamin und H_2SO_4 ergaben. Es war somit auch in diesem Falle ein durchaus negatives Resultat zu verzeichnen. Jene ganz oder z. T. in Kokken aufgelösten Zooglöen hatten, wie sich nachträglich herausstellte, kein entwickelungsfähiges Impfmaterial geliefert, sondern mußten im Gegenteil als abgestorbene oder zum mindesten äußerst abgeschwächte Organismen bezeichnet werden. Denn nicht sowohl die Ueberimpfung auf ammonhaltige Kieselsäureplatten, sondern auch Uebertragungen in flüssige, mineralische Nährlösung von der bekannten Zusammensetzung hatten selbst nach Wochen keine nennenswerte Nitrifikation im Gefolge.

Einerseits gelangten wir also niemals in den Besitz von Kulturen, welche in der Form schwärmender Zellen geeignetes Material für Reinzuchtversuche liefern konnten, andererseits hatte sich die Benützung von Kulturen, die auf passivem Wege zur Auflösung gelangten Zooglöe in Menge enthielten, als erfolglos gezeigt. Wir haben dann in der Folge zu wiederholten Malen Aussaaten mit Material aus lebhaft oxydierenden Kulturen ohne Rücksicht auf An- oder Abwesenheit schwärmender Formen bewerkstelligt, ohne je zu Nitrit bildenden Kolonieen zu gelangen. An letzter Stelle versuchten wir noch auf 2 Wegen zum Ziele zu gelangen, die von vornherein als aussichtslos gelten mußten, die wir aber benützten, um alle Möglichkeiten erschöpft zu haben. Der eine dieser Wege bestand in jener sinnreichen Anwendung des Plattenverfahrens, mit Hilfe welcher Winogradsky zu seinen ersten Reinkulturen kam.

Gelatineplatten wurden mit Material aus dem Bodensatz einer nitrifizierenden Kultur geimpft und nach Ablauf von 10 Tagen solche Karbonatpartikel, die sich frei von anhängenden Bakterien und Hefekolonieen fanden, in mineralische Nährlösung zurücktransportiert. Unter günstigen Umständen konnten diese Karbonatpartikel mit dem

Nitritbildner behaftet sein und so als Ausgangspunkt für Reinkulturen dienen.

Unsere diesbezüglichen Versuche haben kein positives Resultat ergeben, wobei allerdings bemerkt werden muß, daß Winogradsky bei diesem Reinzuchtverfahren nur auf mühsamem Wege gereinigte, bzw. annähernd reine Kulturen verwendet hat. Ebenso wenig als in der angedeuteten Weise gelang eine Isolierung bei direkter Aussaat einer Erdinfusion auf Kieselsäureplatten. In diesem Falle waren es in erster Linie Schimmelpilze, welche durch schnelles Ueberwuchern des Nährbodens eine einwandfreie Abimpfung unmöglich machten.

Die Ergebnisse der im Vorliegenden mitgeteilten Untersuchungen sowie diejenigen unserer früheren Mitteilung (No. 20/21, Bd. I dieses Centralblattes) lassen sich in folgende Hauptpunkte zusammenfassen.

1) In sämtlichen Kulturen, in welchen Ammoniaksalz zu Nitrit oxydiert wurde, fand sich ein kokkenähnlicher Organismus, welcher mit der von Winogradsky beschriebenen Nitrosomas europaea große Aehnlichkeit hat. Wie die letztere, so hatten auch die von uns beobachteten Organismen die Eigentümlichkeit, in mineralischer Nährlösung in zooglöenartigen Verbänden zu vegetieren. Während aber Winogradsky ein zeitweises Ausschwärmen der die Zoogloea zusammensetzenden Elemente konstatieren konnte, ist es uns nie gelungen, unsere kokkenähnlichen Organismen in Bewegung zu sehen.

2) Infolgedessen sind alle Versuche, mittels Kieselsäureplatten einen Nitrit bildenden Organismus rein zu züchten, mißlungen; es fehlte an der Grundbedingung, die eine räumliche Trennung und nachherige Fixierung der Keime im Nährsubstrat verlangt.

3) So weit sich aus den mit unreinen Kulturen in mineralischer Nährlösung angestellten vergleichenden Versuchen über die oxydierende Kraft von Nitritbildnern aus verschiedener Herkunft Schlüsse ziehen lassen, so sprechen diese gegen das Vorhandensein wesentlicher Differenzen in der Leistungsfähigkeit der untersuchten Nitritbildner, von denen 5 aus Deutschland und eine aus Afrika stammten.

4) Ein Nitrat bildender Organismus konnte aus einer von Northeim stammenden Erdprobe isoliert werden. Wir halten denselben für identisch mit dem von Winogradsky aus Quitoerde gezüchteten. Unser Nitratbildner hat die Fähigkeit, auch auf organischen Nährböden, z. B. auf Nährgelatine zu gedeihen; bei dieser Wachstumsweise wird aber kein Nitrit oxydiert und nach Rückimpfung auf mineralischen Nährböden scheint das oxydierende Vermögen dem Organismus meist abhanden gekommen zu sein, nur in einzelnen Fällen konnten wir von neuem Nitratbildung erzielen.

5) Vergleichende Versuche mit nicht vollständig reinen Nitratbildnerkulturen, die mit Erde aus verschiedenen Gegenden Deutschlands angelegt waren, ergaben keine wesentlichen Differenzen in Bezug auf physiologische Leistungsfähigkeit der einzelnen.

6) Kulturen, welche den Nitritbildner und den Nitratbildner gleichzeitig enthalten, lassen sich durch geeignete Zufuhr der stickstoffhaftigen Salze dahin bringen, daß sich in denselben der Vorgang der Nitrifikation in gleicher Weise wie im Erdboden vollzieht, d. h. daß Ammoniaksalze ohne nachweisbare Nitritbildung scheinbar direkt in Nitrate übergeführt werden.

Bonn, Januar 1896.

Tafelerklärung.

Photogr. 1. In Auflösung begriffene Zoogloea des Nitritbildners aus Erdprobe III. Präparat aus einer älteren, in voller Thätigkeit befindlichen Stammkultur. Färbung mit Methylviolett. Vergr. 1 : 1000.

Photogr. 2. Reinkultur des Nitratbildners aus Erdprobe III. Präparat aus jugendlicher Gelatine-Strichkultur. Färbung mit Karbol-Fuchsin. Vergr. 1 : 1000.

Ueber einen neuen Salpeter zerstörenden Bacillus.

[Aus dem bakteriologischen Institut in Bern.]

Von

J. Schirokikh,

Agronom-Ingenieur, Petersburg.

Angeregt durch die diesbezügliche Arbeit von Burri und Stutzer (Centralblatt für Bakteriologie. 1895. No. 9/10) beschäftigte sich Dr. Aebi (Darmstadt) im bakteriologischen Institut Bern näher mit den Denitrifikationsprozessen im Roßmist, und es gelang ihm, Kulturen von Bakterien zu erhalten, die, wie es schien, mit diesen Prozessen im Zusammenhange standen. Weitere Untersuchungen in dieser Richtung ergaben nun, daß eine Anzahl von Bakterien dieser Kulturen Salpeter in keiner Weise beeinflussen, daß aber zwei Bakterien, die sich auch in denselben befanden, Nitrate sehr energisch zerstören. Es sind dies zwei Bacillenarten, deren eine die Gelatine nicht verflüssigt und KNO_3 weniger energisch angreift als die zweite, welche die Gelatine verflüssigt und eine intensive Einwirkung auf die salpetersauren Salze des Roßmistes an den Tag legt. Da die erste Art wohl mit dem Burri-Stutzer'schen Bacillus identisch ist und diese Prozesse in der Landwirtschaft von großer Wichtigkeit sind, so dürfte es nicht uninteressant sein, diesen zweiten noch energischer wirkenden Bacillus näher zu präzisieren.

Was die Züchtung dieses Bacillus anlangt, so gewinnt man ganz leicht Reinkulturen, indem man aus frischem Roßmist nach Aufschwemmung in steriler Bouillon Gelatineplatten anlegt und dann aus den verflüssigenden Kolonieen Agarplatten impft, auf denen man sehr bald in der Lage ist, den Bacillus wegen des charakteristischen Aussehens der Kolonieen zu erkennen und dann zu isolieren. Charakterisiert wird der Bacillus durch folgende morphologische und biologische Kennzeichen:

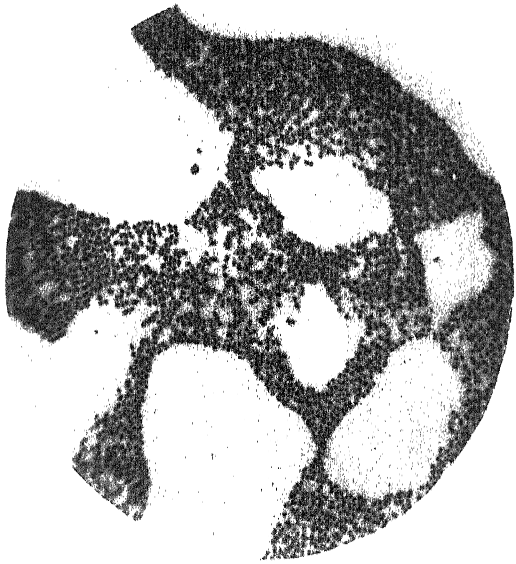


Fig. 1.

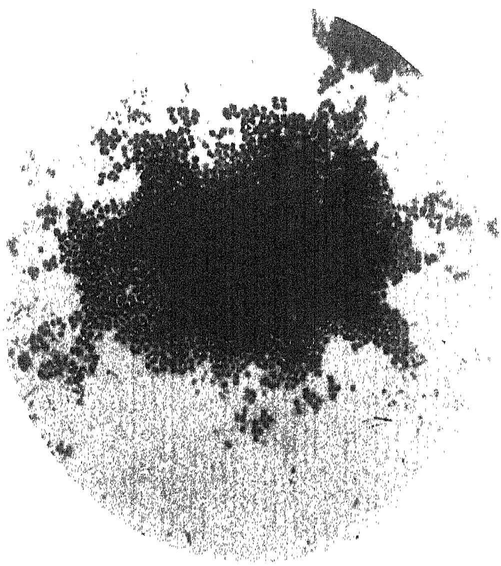


Fig. 2.

I. Form, Größe und Gruppierung.

Zum Studium dieser Punkte wurden Bouillonkulturen herangezogen, die bekanntlich für diesen Zweck die geeignetesten sind. Der Mikroorganismus präsentiert sich, wie schon oben angedeutet, als Bacillus mit abgerundeten Ecken, ohne Vakuolen und ohne Kapseln; er ist $1^1/_2$—2mal so lang als dick und gruppiert sich in Streptoform zu 2, 4 bis 8 Gliedern. Die meist aus 4 Gliedern bestehenden Kettchen sind gerade, hingegen zeigen die längeren Ketten oft Knickungen. Auf anderen Kulturmedien, z. B. Agar, findet man nur die Diploform.

II. Beweglichkeit.

Der Bacillus ist beweglich, hat aber, was die Schnelligkeit der Bewegung anbelangt, eine bedeutend langsamere wie z. B. Bac. pyocyaneus.

III. Färbung.

Die Bacillen färben sich leicht und im großen und ganzen gleichmäßig; jedoch trifft man hie und da Exemplare, bei denen die Pole eine intensivere Färbung zeigen wie die mittlere Partie.

IV. Geruch.

Die frischen Kulturen in Reagenzgläschen haben keinen Geruch; alte Agarkulturen hingegen riechen nach Leim.

V. Sauerstoffbedürfnis.

Der Bacillus ist ein obligater Aërobe.

VI. Temperaturverhältnisse.

Der Bacillus wächst bei Zimmertemperatur mäßig schnell, hat aber sein Wachstumsoptimum bei 37,5°.

VII. Wachstum auf Gelatine.

Auf diesem Nährmedium wächst der Bacillus in Plattenkulturen nicht schnell; bei einer äußeren Temperatur von 20° C werden erst am 3. Tage nach der Impfung Kolonieen sichtbar. Die Kolonieen verflüssigen die Gelatine und haben im Anfang eine unregelmäßige, aber im ganzen runde Form. Schon am 2. Tage nach ihrem Sichtbarwerden sind sie hingegen wie gelappt, was dadurch entsteht, daß mehrere Kolonieen, die neben einander entstehen, feine Kanälchen gegen einander aussenden, die sehr schnell ein Konfluieren der Kolonieen bewerkstelligen. Die Kolonie hat am 2. Tage ihres Entstehens gewöhnlich einen Durchmesser von 1—2 mm; die Verflüssigungsdelle ist von einer hellblauen Flüssigkeit angefüllt, in der gelbe Körnchen schwimmen. Das weitere Wachstum resp. die weitere Verflüssigung geht mehr nach der Tiefe zu als in die Breite. Versetzt man die Gelatine mit KNO_3, so wachsen die Kolonieen bedeutend schneller und charakteristischer.

In Gelatinestichkulturen folgt das Wachstum dem Stich und geht sehr schnell von statten; schon nach den ersten 6 Stunden post inoculationem bildet sich im oberen Teile des Stiches eine Ver-

flüssigung in Form einer weitbauchigen Flasche, die sich allmählich nach der Seite und in die Tiefe ausdehnt, Trichtergestalt annehmend. In den nächsten beiden Tagen vergrößert sich der Trichter allmählich bis in die untersten Schichten der Gelatine und zeigt dann in seinen tieferen Schichten einen feinkörnigen Satz, während die oberen Partieen eine Trübung zeigen, die anfangs einen hellgrauen Farbenton hat, später aber gelblich wird.

VIII. Wachstum auf Agar-Agar.

a) Agarplattenkulturen.

Auf Agarplatten wächst der Bacillus schneller als auf Gelatineplatten, d. h. Brüttemperatur repräsentiert für ihn ein Temperaturoptimum. Die Kolonieen erscheinen bereits nach 24 Stunden und sehen zuerst wie ein Schneekrystall aus, d. h. sie haben die Form eines Sternes, dessen Centrum eine halbkugelige, gelbliche Erhebung zeigt und dessen Zacken aus einer gallertigen hellblauen Masse bestehen. Etwas später bildet sich um die Zacken eine großkörnige, gelbgefärbte, allmählich konfluierende Masse, so daß dann die Kolonie rund wird und einen Durchmesser von 2—4 cm zeigt. Der Nährboden selbst nimmt zu dieser Zeit (etwa 3—4 Tage post inoculationem) eine stark gelbbraune Farbe an. Später trocknet dann die körnige Masse von der Peripherie nach dem Centrum zu ein und verwandelt sich in ein durchsichtiges, farbloses Häutchen mit feingebuchteten Rändern, auf dem noch einige Zeit das vorerwähnte blaue Sternchen ganz deutlich sichtbar bleibt.

b) Agarstichkulturen.

Derartige Kulturen zeigen nach 24-stündigem Einwirken einer Temperatur von 30° C schwaches Wachstum nur im obersten Teile des Impfkanals, hingegen an der Agaroberfläche, d. h. also da, wo der Sauerstoff besser zukommen kann, entsteht ein üppiges, weißes, stark sich faltendes Häutchen, das eine deutlich fadenziehende Konsistenz zeigt.

c) Agarstrichkulturen.

Man findet auf ihnen überall, wo Wachstum stattgefunden hat, jene oben näher beschriebenen weißen Häutchen als typische Form der Kolonieen.

IX. Wachstum auf Kartoffeln.

Auf gewöhnlichen Kartoffeln sowohl als auch auf solchen, denen man durch Behandlung 0,05 Proz. Sodalösung einen bestimmten Alkalescenzgrad verliehen hat, bilden die Kolonieen leicht braune, stark sich faltende, fadenziehende Massen ohne Verfärbung der umliegenden Partieen des Nährbodens.

X. Wachstum auf Bouillon.

In Bouillonkulturen bildet der Bacillus bereits nach 48 Stunden auf der Oberfläche des Nährsubstrats eine weiße, sich faltende Haut, während sich die anderen Partieen der Bouillon gleichmäßig trüben; dann tritt als Characteristicum eine intensiv gelbe Verfärbung der obersten Bouillonschichten auf.

XI. Wachstum auf Milch.

Das Wachstum auf Milch hat weiter nichts charakteristisches als eine sehr schnelle Peptonisierung derselben, welche mit der Bildung eines hellen, durchsichtigen Ringes unter der Rahmschicht beginnt und sich sehr schnell nach unten zu fortsetzt, so daß die Milch in 1—2 Tagen peptonisiert erscheint.

XII. Sporenbildung.

Sporen bildet der Bacillus sehr schnell und in großer Anzahl, so daß man schon 2 Tage nach der Impfung dieselben häufig in Präparaten findet, teils schon frei, teils noch innerhalb der Bacillen und zwar in centraler Lagerung. Die Sporen färben sich gut nach der Möller'schen Methode.

XIII. Chemisch-physiologisches Verhalten.

Impft man den Bacillus auf Bouillon, die 2,5 g KNO_3 pro Liter enthält, so zerstört er den in derselben enthaltenen Salpeter bei einer Temperatur von 30—35° C in 5—8 Tagen.

10. Februar 1896.

Ueber den jetzigen Stand der bakteriologischen Forschung auf dem Gebiete des Käsereifungsprozesses.

Von

Dr. H. Weigmann.

(Schluß.)

Die zweite Schlußfolgerung wäre dann die, daß es Bakterien giebt, welche zugleich mit der Eigenschaft, Parakaseïn oder Kaseïn direkt zu peptonisieren, die Eigenschaft besitzen, für sich allein oder zusammen mit anderen einen spezifischen Käsegeruch und -Geschmack zu verursachen und welche somit befähigt sind, einem mit ihnen hergestellten Käse einen bestimmten Charakter zu verleihen.

Was die Klassifizierung der bei obigen Untersuchungen gefundenen, leider nicht vollständig studierten Bakterienarten anlangt, so kann ich mit Bezug auf die ersterwähnten Arten nur der Vermutung Raum geben, daß die den im 2. Versuch erwähnten stark fauligen Geruch verursachende Bakterie, zu den Buttersäurebakterien zu rechnen sein dürfte, weil die Milchkultur nach Buttersäure roch und ein Destillat die Buttersäurereaktion kräftig gab. Ob sie zugleich aber den Clostridiumformen zugezählt werden kann, kann ich nicht angeben. Von den beiden anderen Bakterienarten, welche den scharfen Geruch nach Limburgerkäse erzeugen, gehört die b zu den Clostridien, die a wahrscheinlich auch. Bezüglich der Bezeichnung „Buttersäure-

bakterien" stimme ich den Ausführungen Baier's zu, daß nur wenige solche bekannt sind, welche eine wirkliche Buttersäuregärung verursachen, daß man sich vielmehr unglücklicher Weise gewöhnt hat, Bakterien als Buttersäurebakterien zu bezeichnen, deren biochemisches Verhalten meist einen ganz anderen Charakter trägt als den der Erzeugung von Buttersäure und wobei die Buttersäurebildung Nebensache ist. Die allen diesen, unter der Bezeichnung Buttersäurebakterien zusammengefaßten Bakterienarten gemeinsame Eigenschaft scheint mir vielmehr die zu sein, daß sie Milch entweder in Labgerinnung versetzen oder diese Gerinnung und eine darauffolgende Peptonisierung bewirken, obwohl es auch hier Ausnahmen giebt.

Alle erwähnten Bakterienarten, ausgenommen die Bakterie der nach Limburgerkäse stinkenden Milch — sie sei auch Clostridium foetidum lactis genannt — von der weitere Eigenschaften noch nicht bekannt sind, sind Aëroben oder fakultative Anaëroben. Da ich annehme, daß ihnen als Milchbewohnern, teilweise sogar häufigen Milchbewohnern, die Fähigkeit Käsereifung zu bewirken, nicht abgesprochen werden kann, so wäre damit gezeigt, daß nicht nur Anaëroben, sondern auch Aëroben eine solche herbeiführen können. Ich glaube, daß es auch hier besser ist, von einer Klassifizierung gänzlich abzusehen resp. davon abzustehen, einer besonderen Gruppe von Bakterien die Fähigkeit der Käsereifung zuzuschreiben. Wenigstens scheinen mir Eigenschaften, welche mit dem chemischen Prozeß der Reifung — der in der Hauptsache doch eine Auflösung oder sagen wir Peptonisierung des Parakaseïns ist, — nicht in direkter Beziehung stehen, wie Anaërobie, Buttersäurebildung, Verflüssigung der Gelatine etc. wenig dazu angethan zu sein, daß man sie als allgemeine Characteristica für die Käsereifungsbakterien gelten lassen könnte. Besser geeignet scheint mir eine Unterbringung resp. eine Zusammenfassung der bekannten oder vermutlichen eigentlichen Käsereifungsbakterien unter den Sammelbegriff „peptonisierende Bakterien" oder unter Benutzung der Bezeichnung Duclaux's für das kaseïnlösende Ferment, „Kasease, Kasease bildende Bakterien" oder kurzweg „Kaseasebakterien" (entsprechend Milchsäurebakterien).

Wie die Untersuchungen Schulze's u. A. gezeigt haben, ist die Reifung im wesentlichen eine Ueberführung des Kaseïns in lösliche Eiweißstoffe: Albumosen und Pepton. Daran müssen wir vor allem festhalten. Alle anderen nebenherlaufenden Gärungen spielen ihr gegenüber zunächst eine untergeordnetere Rolle, selbst die Augenbildung und die in allen Käsen in den ersten Stunden auftretende Milchsäuregärung erscheinen der Peptonisierung gegenüber nur als unvermeidliche Begleiterscheinungen. Die Augenbildung ist nur ein Gradmesser für den Verlauf der Gärung und der Reifung im allgemeinen und ist für den Praktiker infolgedessen ein Wertmesser für die Sorgfalt bei der Bearbeitung des Bruches und bei der Behandlung des Käses selbst und da ihm die Erfahrung gelehrt hat, daß normal gelochte Käse meist auch normal im Geschmack sind, so beurteilt er nicht selten die Qualität des Käses darnach. Wie aus einer nicht geringen Zahl von Beschreibungen über Bakterien aus Käse und auch aus den obigen Mitteilungen hervorgeht, giebt es unter den gewöhn-

lichen, in jeder Milch enthaltenen Kaseasebakterien nicht wenige, welche bei der Zersetzung des Parakaseïns käseähnlich riechende Produkte liefern und diese dürfen wir wohl als die „eigentlichen Käsebakterien“ bezeichnen. Sie sind es, welche dem Käse den eigentlichen Käsecharakter und unter Umständen wahrscheinlich auch den Charakter einer bestimmten Käsesorte verleihen. Die erwähnten Nebengärungen aber sind an der Bildung des spezifischen Käsecharakters, besonders wohl aber an dem Aroma des Käses mitbeteiligt.

Das Zustandekommen des Charakters einer Käsesorte hängt, wie wir wissen, von der Fabrikationsmethode ab. Diese Fabrikationsmethode wird sich mit Bezug auf die Pilzflora im Käse äußern:
- durch verschiedene Mengen von Bakterien und Pilzen im Käsebruch,
- durch Begünstigung oder Beschränkung des Wachstums einiger Pilzgattungen oder -Arten
  - infolge eines größeren oder geringeren Wassergehaltes,
  - infolge eines ebenso verschiedenen Milchsäuregehaltes,
  - infolge des Einflusses der Temperatur beim Labprozeß und beim Nachwärmen
  - und infolge der Behandlung des Käses während der Reifezeit.

Man darf wohl annehmen, daß der Wasser- resp. Molkengehalt in erster Linie in Frage kommt bei dem Charakter der Reifung, denn die einzelnen Fabrikationsphasen, die Temperatur, bei welcher der Labprozeß ausgeführt wird, die Menge des Labes, das Nachwärmen, soweit es ausgeführt wird, das Pressen des Käses laufen darauf hinaus, dem Käse einen bestimmten Wassergehalt zu geben.

Daß dieser Wassergehalt zunächst von größtem Einfluß ist auf die Menge der den Käse zersetzenden Mikroorganismen und die raschere oder langsamere Reifung sowie dadurch allein schon auf den Grad der Feinheit des Geschmackes, ergiebt die einfache Ueberlegung.

Dann aber ist nicht ausgeschlossen, daß der Wassergehalt eines Käses das Wachstum bestimmter Bakterienarten fördert oder andererseits hemmt und daß dadurch die Bildung gewisser Geschmacksstoffe aus dem Kaseïn gesichert ist.

Ferner kommt hier der Milchsäuregehalt, vielleicht auch noch die geringe Menge Milchzucker in Frage. Sicher wird der milchsaure Kalk verschiedene Gärungen durchmachen, welche ebenfalls bestimmte Geschmacksstoffe gewährleisten.

Durch das Nachwärmen wird nicht allein der Wassergehalt noch reguliert, sondern auch wahrscheinlich einerseits das Wachstum gewisser Bakterienarten gefördert und andererseits, speziell bei höherem Nachwärmen, auch die Beseitigung gewisser Bakteriengattungen besorgt, wie die Versuche v. Freudenreich's und dervon mir mitgeteilte Versuch ergeben. Namentlich im letzteren Falle wird selbstverständlich eine gewisse Reifungsrichtung hervorgerufen.

Auch die Behandlung des Käses nach dem Pressen, die Temperatur des Reifungsraumes, der Wassergehalt der Luft etc. spielen ja bekanntlich eine gewisse Rolle, wenngleich diese Faktoren — abgesehen

von denjenigen Käsen, welche ihre Reifung Schimmelpilzen verdanken — keinen so sehr großen Einfluß mehr haben wie die Faktoren bei der Herstellung des Käsebruches.

Wir sehen, daß es hauptsächlich diese kurz resumierten Faktoren bei der Käsefabrikation und die Wirkung dieser auf die Pilzflora sind, welche den Charakter eines Käses ausmachen und es gelingt bekanntlich auch bei genauer Einhaltung der Fabrikationsweise, eine Käsesorte an anderen Orten herzustellen, wenngleich der Charakter des so gewonnenen Käses nicht völlig mit dem eines einheimischen Käses übereinstimmt. Aus diesen Erwägungen über den Einfluß der Fabrikationsweise auf den Charakter der Käsereifung resp. den Geschmack des reifen Käses muß gefolgert werden:

1) daß in jeder Milch Kasease- und auch eigentliche Käsebakterien oder -Pilze vorhanden sein müssen,
2) daß es also Käsepilze verschiedener Art und Gattung geben muß, welche entweder allgemein verbreitet oder seltener sind,
3) daß es außerdem Bakterien und Pilze geben muß, welche einen spezifischen Käsegeschmack für sich allein oder in Verbindung mit anderen erzeugen.

Von solchen verschiedenen Bakterienarten mit der gleichen Eigenschaft, also der Bildung von Käsegeruch und Käsegeschmack, sind bekanntlich ebenfalls eine ganze Reihe von Duclaux, Adametz, v. Freudenreich, Henrici u. A. gefunden worden.

Die Differenzierungen im Geschmack von Käsen aus derselben Milch nach verschiedener Art fabriziert, werden dann hauptsächlich in der verschieden großen Menge der Käsebakterien und somit dem mehr oder minder starken Hervortreten der Wirkung derselben (geringere oder größere Feinheit) und in der Begünstigung dieser oder jener Art zu suchen sein. Der Charakter der betreffenden Käsesorte wird dann um so deutlicher hervortreten, wenn in der betreffenden Milch zufällig eine Art enthalten ist, welche die Eigenschaft hat, den bestimmten spezifischen Käsegeruch (Emmenthaler, Backsteinkäse) zu verursachen.

Solche Bakterien bzw. Pilze, welche einen bestimmten Käsegeruch erzeugen, werden in den Ställen, auf den Weiden, in dem Futter, namentlich dem Heu und Stroh, überhaupt in der ganzen Natur und infolge dessen auch in der Milch der betreffenden Gegend enthalten sein, wo die Fabrikation eines Käses heimisch ist und deshalb wird in der Gegend der Charakter dann deutlicher hervortreten als anderwärts, obgleich ja auch in der Heimat eines Käses selbst wieder genügend deutlich auftretende Unterschiede vorhanden sind. Sind nun diese spezifischen Käsebakterien solche, welche an sich weit verbreitet sind oder sich anderwärts leicht akklimatisieren, so wird die Herstellung des Käses auch anderwärts nicht sehr große Schwierigkeiten bieten, wenn gleich vielleicht immer feinere Unterschiede bleiben werden.

Diese feineren Unterschiede nun messe ich der Gesamtheit der ganzen Bakterien- und Pilzwelt in dem Käse zu. Das Aroma eines Käses bestimmen nicht allein spezifische, in größerer Menge

vorhandene Käsebakterien, sondern dazu tragen auch die fakultativen Milchsäurebakterien, das Bacterium coli in seinen verschiedenen Varietäten, die Hefen, Oïdien, Schimmel etc. bei. Diese sind, wenngleich es auch hier mehrere weitverbreitete Formen giebt, offenbar ebenfalls klimatisch verschieden.

Ein Käse und eine Käsemolke von Schweizerkäse in Ostpreußen und solche in der Schweiz werden sicher mit Ausnahme einiger allgemein verbreiteter Arten die verschiedensten Bakterien-, Hefen-, Oïdien-, Schimmelpilz- etc. Arten aufweisen.

Ebenso habe ich, wie mitgeteilt, aus holländischer Molke immer Pilze gezüchtet, welche ein kräftiges, angenehmes Aroma geben, während ich solche in unserer Käsemolke nicht so häufig traf.

Aehnliche Verhältnisse bestehen da, wo die Reifung des Käses nicht durch Bakterien, sondern durch Schimmelpilze bewirkt wird, wie beim Roquefort, dem Camembert etc.

Der Roquefortgeschmack wird durch das Penicillium glaucum hervorgerufen und zwar nicht allein in Käse, sondern auch in Butter und Margarine, wie ich mich mehrfach überzeugt habe. Der stärkste Roquefortkäsegeruch entsteht schon, wenn man P. glaucum in Butter aus sterilisiertem oder pasteurisiertem Rahm impft und unter günstigen Bedingungen wachsen läßt. Besondere Feinheiten aber des Roquefortkäses werden sicher nur hervorgerufen durch die begleitenden Bakterien, Pilze etc., die entweder auf natürlichem oder künstlichem Wege in die Milch gebracht werden müssen.

Noch difficiler sind die Verhältnisse beim Camembert. In dieser Richtung hat uns Höfelmeyer in seiner Schrift: „Kurze Zusammenstellung meiner Forschungen auf milchindustriellem Gebiete in Frankreich“ die allerbedeutsamsten Fingerzeige gegeben. Höfelmeyer hat gefunden, daß die von ihm mit Originalschimmel ohne geschmacksbildende Fermente, wie er sich ausdrückt, hergestellten Käse lange nicht die Feinheit hatten wie die mit solchem fabrizierten Käse. Diese Pilze, selbst auch wahrscheinlich die Schimmelarten, sind eben nur in einigen Gegenden der Normandie heimisch und können nur durch vollständiges Ueberpflanzen mittelst Kulturen in den entfernten Betrieb eingeführt werden. Daß dies große Schwierigkeiten hat, läßt sich wohl denken und ebenso, daß Rückfälle in die ortsübliche Käsereifungsrichtung sich öfter wiederholen.

Ueber diese Rückfälle, sowie überhaupt über die Schwierigkeiten der Einführung solcher Kulturen hat mir vor kurzem Herr Höfelmeyer freundlicher Weise sehr interessante Mitteilungen zukommen lassen. Er schreibt: Den ungünstigen entgegenarbeitenden Einfluß bei Milchfehlern und die verdeckende Wirkung ursprünglich in der Milch vorhandener Fermente habe ich nur zu oft erfahren. Ich erhielt zu Anfang monatelang zwischen 30 und 10 Proz. aller Käse — reine Backsteinkäse, wenige Prozente, aber häufig wiederkehrend, Käse von unzweideutigem Rundkäsegeschmack (Backstein- und Rund- oder Schweizerkäse sind die ortsüblichen Fabrikate im Allgäu). „. . . . . Giebt es einen schlagenderen Beweis für den Einfluß der in einer Gegend herrschenden Fermente?“

Dies sind meine bisherigen Beobachtungen und Erfahrungen über die Käsereifung, von denen Baier in seinem Sammelreferate über die Buttersäuregärung gesprochen hat, sowie die sich daran knüpfenden Anschauungen über die Käsereifung selbst, die in ihren Grundzügen mit denen von Adametz, Duclaux, v. Freudenreich und Henrici übereinstimmen dürften.

Um das Vorstehende kurz zusammen zu fassen, möchte ich unterscheiden zwischen

Kaseasebakterien und -Pilzen = peptonisierende Bakterien und Pilze,

Käsepilze = Kaseasepilze mit der Wirkung auf Kaseïn resp. Parakaseïn, daß sie einen käseartigen Geruch und Geschmack verursachen,

Käsepilze mit spezifischem Käsecharakter = Käsebakterien und -Pilze, welche einen feineren (etwa Emmenthalerkäse-) Geruch oder auch einen intensiveren, mehr fauligen Käsegeruch verursachen, wie die Bakterien des oben erwähnten spezifischen Backsteinkäsegeruches, überhaupt Pilze mit einem ausgeprägten, einer bestimmten Käsesorte gleichendem Geruche und Geschmack, Penic. glaucum etc.,

aromatische Stoffe erzeugende Bakterien und Pilze = Bakterien der verschiedensten sonstigen Wirkung, welche die Eigentümlichkeit besitzen, fruchtesterartige oder überhaupt aromatische Stoffe zu erzeugen — einzelne vielleicht mit der Eigenschaft, in Verbindung mit anderen Pilzen käseartig aromatisch riechende Stoffe zu bilden.

Die Käsebakterien sind die allgemeinen, die Käsereifung bewirkenden Bakterien — vielleicht gehören auch die Kaseasebakterien, sicher aber mehrere Kasease erzeugende Schimmelpilze dazu —, die Käsebakterien mit spezifischem Käsecharakter geben, wenn sie in größerer Menge vorhanden, der Reifung des Käses bereits eine bestimmte Richtung, resp. erzeugen eine bestimmte Käsesorte. Außer den spezifischen Käsebakterien spielen aber auch die Aroma bildenden Bakterien und Pilze eine beinahe ebenso wichtige Rolle für die Bildung eines besonderen Charakters in den Käsen. Sie vermögen dies nicht allein mit den spezifischen Käsebakterien, sondern sind für sich allein schon imstande, dem Käse ihren Stempel aufzudrücken, wenn der Kaseasepilz, welcher die eigentliche Reifung (Peptonisierung) bewirkt, in Bezug auf geruch- und geschmacksbildende Stoffe sich indifferent verhält.

Kiel, 15. Februar 1896.

Zusammenfassende Uebersichten.

Die Infektionskrankheiten des Weines.

[Sammelreferat.]

Von

Dr. J. Behrens.

Die Krankheiten des Weines sind, soweit genauer bekannt und studiert, mit wenigen Ausnahmen auf die Thätigkeit von Bakterien zurückzuführen. Durch wilde Hefen erzeugte Krankheiten, wie die Mehrzahl der Bierkrankheiten, sind bis jetzt für den Wein unbekannt. Gerade aber für Bakterien ist der Most resp. der Wein schon vermöge seines Säure- und resp. Alkoholgehaltes ein wenig geeigneter Nährboden. Gesunder Naturwein zeigt sich denn auch bei Schaffer und Freudenreich's Untersuchungen (1) als ganz frei von Bakterien, während die untersuchten Kunstweine allerdings größtenteils Bakterien in mehr oder weniger großer Anzahl, meist neben Hefezellen, führten. Auch gelingen nur relativ selten die Infektionen von Most und Wein mit Bakterien, selbst mit solchen, die aus Most und Wein isoliert waren, und gerade das Mißlingen der künstlichen Infektion stellt sich dem Fortschritte unserer Kenntnisse vielfach hindernd in den Weg. Kann ja doch erst dann mit voller Berechtigung ein bestimmter Mikroorganismus als Ursache der Krankheit angesehen werden, wenn es gelingt, durch Infektion mit demselben in gesunden Organismen die Krankheit oder wie hier in normalen Nahrungsmitteln die charakteristische Veränderung zu erzeugen. Diese Forderung ist für die Erreger der Weinkrankheiten nur in wenigen Fällen erfüllt, auch nicht in solchen, wo nach allem, was beobachtet ist, ein Zweifel an der Verursachung der Krankheit durch Mikroorganismen kaum noch möglich ist. Die Infektion gesunder Weine durch kranke resp. durch die aus den letzteren gezüchteten Bakterien gelingt nicht oder nur in Ausnahmefällen.

Diese Thatsache ist nur dadurch zu erklären, daß gewisse Bedingungen erfüllt sein müssen, um Bakterienwachstum im Most resp. Wein zu ermöglichen, und zwar muß ein zu Krankheiten neigender Wein in einer chemischen Zusammensetzung irgendwie Bakterien günstige Lebensverhältnisse bieten, eine Disposition zur Erkrankung besitzen. (Wortmann) (2). So führt schon Preyß (2) das häufig auftretende „Brechen" der ungarischen Flaschenweine auf den hohen Stickstoffgehalt derselben zurück, der, als Eiweiß ($N \times 6{,}25$) berechnet, 1,5—3 Proz. beträgt, und Kramer (4) vermochte durch Peptonzusatz Wein, der vorher keine Bakterienentwickelung, auch bei Infektion, zuließ, zu einem guten Nährmedium für die aus umgeschlagenem Weine gezüchteten Bakterien zu machen. Wortmann (3) weist mit Recht darauf hin, daß auch in Absterbevorgängen der Trubhefe sicherlich die Quelle mancher Weinkrankheiten zu suchen ist,

worauf auch Neßler (3) aufmerksam macht. Daß solche die Entwickelung von Bakterien begünstigende Momente, die Disposition zur Erkrankung, für das Eintreten der letzteren wesentlich sind, folgt auch aus der mehrfach von Portele (1), Martinand und Rietsch (1), sowie Müller-Thurgau (2, 3, 4) festgestellten Thatsache, daß schon auf den Traubenbeeren stets eine Menge von Krankheitskeimen vorhanden sind und mit denselben in den Most gelangen. Wenn also die Gegenwart der Krankheitserreger allein schon zur Erzeugung der unerwünschten Veränderungen des Weines genügte, so würde es überhaupt keinen gesunden Wein geben.

Der Säuregehalt des Mostes verhindert zunächst in hohem Maße das Wachstum schädlicher Mikroorganismen und wenn auch im Laufe des Ausbaues eine beträchtliche Verminderung der Säure im Wein stattfindet, nach Kulisch (1, 2) und Wortmann (4) durch die Hefe, nach Müller-Thurgau (3), sowie Mach und Portele (2) durch gewisse Bakterien bewirkt, so sind später der Alkohol- sowie der Kohlensäuregehalt, letzterer insbesondere bei Jungweinen (vergl. Aderhold) (1) womöglich noch bessere Schutzmittel gegen unliebsame Veränderungen.

Eine der wenigen Krankheiten des Weines, welche nicht auf der Thätigkeit von Bakterien, sondern auf der von hefeähnlichen Organismen beruhen, ist die Kahmbildung. Zuerst von Pasteur (1) genauer studiert, der den Verursacher Mycoderma vini nannte, tritt die Kahmhaut, auch Kuhnen genannt, besonders auf nicht sehr alkoholreichen Weinen auf. Der Pilz, den Rees (1) später wegen seiner Verwandtschaft mit den Alkoholgärungspilzen als Saccharomyces mycoderma bezeichnete, besteht aus eiförmigen oder mehr gestreckten Zellen, die oft zu reichen Sproßverbänden vereinigt sind und bildet auf der Oberfläche des Weines einen undurchsichtigen, gelbweißen, hautartigen Ueberzug von oft über 1 cm Dicke. Die Angabe von Rees, daß der Pilz Endosporen wie die echten Hefen bilde, fanden andere Beobachter nicht bestätigt.

Mit der Wirkung des Kahmpilzes auf den Wein haben sich zahlreiche Arbeiten, insbesondere von Schulz (1), Kramer (1) und Schaffer (1) befaßt. Ganz sicher und schon Pasteur (1) und Neßler (1, 2) bekannt ist der oxydierende Einfluß des Mycoderma auf den Alkohol, der dadurch zu CO_2 und Wasser verbrannt wird. Aber auch andere Bestandteile des Weines gehen in den Stoffwechsel des Kahmpilzes ein. Schon Ad. Mayer (1) stellte fest, daß der Kahmpilz auf Lösungen von Salzen verschiedener organischer Säuren (Weinsäure, Milch- und Apfelsäure) leben und wachsen kann. Winogradsky (1) bestätigte dies und wies nach, daß je nach der Ernährung auch die Gestalt des Kahmpilzes wechselt. Beyerinck's Untersuchungen (1) ergaben eine sehr merkwürdige Anpassung des Kahmpilzes an die Produkte der Maltose- und Rohrzuckerhefen, Alkohol, Glycerin und Bernsteinsäure sind gute Nährstoffe für ihn. aber auch Essigsäure und die Zuckersäuren vermag er zu assimilieren. Daß er auch, wie Beyerinck bestätigt, Dextrose und Lävulose zu Alkohol zu vergären vermag, kommt für seine Rolle als Krankheitserreger nicht in Betracht. Schaffer's Untersuchungen (1) ergaben

daß der Kahmpilz außer dem Alkohol auch gewisse Extraktbestandteile des Weines, insbesondere auch die Gesamtsäure zum Teil zerstört, daß dagegen flüchtige Säuren und Weinstein keine Abnahme zeigten. Durch die Zerstörung eines Teiles der freien Säure macht der Kahm den Wein zu einem vorzüglichen Nährmedium für die Essigbakterien und begünstigt so das Auftreten des Essigstichs (Kramer 1, 5).

Ob der unreine Geschmack, den kahmige Weine oft zeigen, allein darauf beruht, daß Mycoderma dem Wein eine Anzahl geschmackgebender Stoffe entzieht, ist mindestens fraglich; weit wahrscheinlicher ist, daß der Kahmpilz noch unbekannte, den Geschmack beeinflussende Stoffe bildet und dem Weine mitteilt. Leider sind die darüber vorliegenden Untersuchungen, wenigstens die älteren, deshalb mehr oder minder unzuverlässig, weil die Versuchsansteller nicht mit Reinkulturen arbeiteten. Dieser Mangel entwertet einen großen Teil der Resultate von Schulz (1), nach dessen Angaben Mycoderma vini auf allen Nährmitteln Essigsäure, bei Ernährung mit Aepfel- und Bernsteinsäure Buttersäure, auf Weinsteinlösung Propionsäure, bei Glycerin-Ernährung Valerian-, und auf Traubenzucker- und Dextrinlösungen Milchsäure bilden soll. Zweifellos ist übrigens der Name Kahmpilz, ebenso wie der Name Hefe nichts als ein Sammelbegriff für zahlreiche verschiedene Mikroorganismen von ähnlichem Aussehen, aber ganz verschiedenen physiologischen Eigenschaften, und es sind daher selbst die reinen Kahmpilze verschiedener Untersucher mit einander ohne weiteres nicht zu identifizieren, eine Ueberlegung, die gewiß für noch andere Organismen des Mostes und Weines gilt.

Nach Fitz (1) soll der Rauchgeschmack auf hefeähnliche Zellen, die er im Bodensatz eines von ihm untersuchten 68er pfälzer Weines fand, und die Rees als Sporen von Botrytis cinerea Fr. bestimmte, zurückzuführen sein. Bersch (1) kam zu demselben Resultate, das aber sofort von E. M. (Mach) (1) bestritten und widerlegt wurde. Auch die Untersuchungen Müller-Thurgau's (1) über die Edelfäule lassen keinen Zweifel, daß Botrytis an dem Rauchgeschmack völlig unschuldig ist. Kramer (5) vermutet, daß Bakterien die Ursache dieser Krankheit sind. Immerhin wäre es nicht unmöglich, daß eine wilde Hefe, die Botrytissporen in ihrem Aussehen ähnelt, den Rauchgeschmack hervorruft. Ist ja doch aus Kefirkörnern eine Hefe isoliert, welche den mit ihr vergorenen Bierwürzen einen rauchigen Geschmack mitteilt, und nach Wortmann (5) verleihen gewisse Torulaformen, welche bei der Weingärung mitwirken und zum Teil kahmartig wachsen, dem Weine unangenehme Geruchs- und Geschmackseigenschaften.

Ueber das Auftreten von Schwefelwasserstoff im Wein, welcher den sog. Böcksergeschmack bewirkt, hat neuerdings Kulisch (3, 4) eingehende Untersuchungen angestellt. Er bestätigt die früher schon zum Teil angenommene Ansicht, daß der Schwefelwasserstoff ausschließlich bei Anwesenheit von Schwefel im gärenden Most entsteht, und zwar bildet die Hefe bei Anwesenheit von Schwefel das genannte Gas. Schwefel kann in den Most einmal infolge Behandelns der Trauben mit Schwefelpulver gelangen, wie es gegen Oïdium vielfach angewendet

wird, dann aber und hauptsächlich gelegentlich des Einbrennens der Fässer, indem Schwefel abtropft oder unverbrannt sublimiert. Nachdem schon 1888 Rey du Pailhade in der Hefe einen in Alkohol löslichen, mit Schwefel Schwefelwasserstoff bildenden Körper, Philothion, nachgewiesen hat, liegt es nahe, auf die wechselseitige Wirkung des Hefe-Philothions und des Schwefels auch das Entstehen des Gases im gärenden Most zurückzuführen. Uebrigens ist beim Praktiker der Böckser ein sehr vieldeutiger Begriff und werden zahlreiche Geschmacksfehler fälschlich unter diesem Namen begriffen, welche mit der Anwesenheit von Schwefelwasserstoff nichts zu thun haben.

Unter den vielen und verschiedenen Hefen, welche auf den Traubenbeeren sich finden, ist insbesondere ein Typus sehr verbreitet, den man mit einem gewissen Recht als Krankheitsursache betrachten kann. Es sind das die Hefen, welche man unter dem Sammelnamen Saccharomyces apiculatus begreift. Wie Müller-Thurgau (2, 3) gezeigt hat, ist diese Hefe sehr wenig gärkräftig, indem sie schon bei geringem Alkoholgehalt ihr Wachstum und ihre Gärthätigkeit einstellt und verleiht dazu dem mit ihr vergorenen Traubenmost eine fremdartige obstweinähnliche Göhr. Dieser Fehler wird allerdings in der Praxis deshalb weniger oder gar nicht zum Vorschein kommen, weil eben neben der zugespitzten Hefe stets auch echte Weinhefe auf den Trauben vorhanden ist und die erstere bald verdrängt und unterdrückt. Nur auf Beerenobst, Aepfeln u. s. f., wo überhaupt Saccharomyces apiculatus vorzuwalten pflegt, kann echte Weinhefe ganz fehlen. Dagegen ist immerhin bedenklicher die weitere Beobachtung Müller-Thurgau's, daß in Mosten, in denen zunächst der schwach gärende Apiculatus neben der echten Weinhefe vegetiert, die Gärung weniger gut verläuft als bei alleiniger Gegenwart der letzteren. Der Saccharomyces apiculatus scheint also Stoffwechselprodukte zu bilden, welche einen gewissen schädigenden Einfluß auf das Wachstum und die Gärthätigkeit der Weinhefe ausüben.

In viel höherem Maße ist das letztere der Fall bei gewissen Pilzen, insbesondere bei dem grünen Pinselschimmel (Penicillium glaucum), der teils schon im Rebberg an den Beeren die Speckfäule hervorruft, teils bei verzögerter Gärung, unrichtiger Behandlung des Mostes u. s. w. auf diesem auftreten, teils an dem Holz der Fässer und anderer Kellergeräte vorhanden sein kann. Werden die speckigfaulen Beeren nicht ausgelesen oder der Most vor dem Schimmeln nicht gehütet, wird der Most oder der Wein in schimmelige Fässer abgelassen oder gefüllt, so ist nicht nur ein ausgeprägter sogen. Schimmelgeschmack des Weines die Folge, sondern die Stoffwechselprodukte des Pilzes, die in den Most gelangt sind, hindern, wie Müller-Thurgau (2, 3) gezeigt hat, auch in hohem Maße das Eintreten der Gärung und hemmen ihre Intensität. Daß die außerordentlich verzögerte Gärung der hochfeinen Auslesemoste des Rheingaues, die bekanntlich aus edelfaulen, d. h. von Botrytis cinerea befallenen und in charakteristischer Weise veränderten Beeren bereitet werden, wahrscheinlich auf die hemmende Wirkung der Stoffwechselprodukte dieses Pilzes zurückzuführen ist, darauf hat Kulisch neuer-

dings wohl mit Recht hingewiesen (5). Die analytisch nachweisbaren Aenderungen der Zusammensetzung, welche diese Schimmelpilze Botrytis und Penicillium bei ihrem Gedeihen auf Most hervorbringen, hat Müller-Thurgau in der oben schon erwähnten Arbeit (1) ausführlich behandelt.

Eine sehr unangenehme, bei der heutigen Geschmacksrichtung, welche rezente junge Weine vorzieht, aber nicht seltene Erscheinung, ist das Auftreten einer Nachgärung auf den Flaschen. Ob dieselbe von der echten Weinhefe oder, wie nach den Erfahrungen in der Brauerei wahrscheinlicher, von sogen. wilden Hefen herrührt, ist bisher unbekannt. Jedoch ist es nach den eingehenden Untersuchungen von C. Schulze (1, 2) zweifellos, daß man der lästigen Erscheinung durch Pasteurisieren leicht vorbeugen kann. Ein zweistündiges Erwärmen des Weines auf nur 45° C genügte, schon selbst bei dem geringen Alkoholgehalt von 6—7 g pro 100 ccm, um die Hefen der Nachgärung sicher zu töten. Das ist eine so niedrige Temperatur, daß eine ungünstige Beeinflussung der Qualität des Weines dabei vollständig ausgeschlossen ist.

Ein zwischen Schimmelpilzen und Hefe gewissermaßen in der Mitte stehender Organismus, das bekannte und viel untersuchte Dematium pullulans kann nach Wortmann's Untersuchungen (1) die Ursache einer Weinkrankheit werden. Der im Most wohl nur selten fehlende, durch seine hefeartig sprossenden Flüssigkeitskonidien bekannte Pilz nimmt nicht nur zur Unterhaltung seines Wachstums nicht unbeträchtliche Zuckermengen in Anspruch, sondern er giebt auch an den Most eine schleimige, fadenziehende Substanz ab, vielleicht ein Quellungsprodukt der äußeren Zellhautpartieen, und verursacht dadurch ein Zähe- oder Schleimigwerden des Mostes. Wie nach Lindner in der Bierwürze, so kann Dematium also auch im Most die Ursache einer Krankheit, des Lang- oder Schleimigwerdens werden. Uebrigens ist dieselbe von nur geringer Bedeutung, da Dematium gegen Kohlensäure sehr empfindlich ist und mit eintretender Gärung sein Wachstum sehr bald einstellt, wie insbesondere auch Aderhold's Untersuchungen (1) gezeigt haben.

Bedenklicher, wenn auch immer noch zu den relativ leichteren Krankheiten des Weines gehörig ist das durch Bakterien hervorgerufene Zähe- (Schleimig- oder Lang-) werden desselben. Dasselbe tritt nur in Jungweinen auf, die noch unvergorenen Zucker enthalten und die unangenehme, auch den Geschmack ungünstig beeinflussende Beschaffenheit des langgewordenen Weines verliert sich häufig schon mit der fortschreitenden Gärung, jedenfalls meist dann, wenn die Gärung wieder in lebhaften Gang gebracht wird. Auch wenn man zähen Wein gut durchlüftet, so wird er wieder dünnflüssig, indem der Schleim sich zu Boden setzt. Pasteur (1) wies in zähem Weine einen Coccus nach, dessen Einzelzellen häufig in rosenkranzartigen Ketten angeordnet sind. Kramer (2, 3), der die schleimige Gärung des Rohrzuckers, des Milchzuckers, sowie der Glykose näher untersuchte, fand als Urheber des Langwerdens von Wein einen obligat anaëroben Bacillus, den er als Bacillus viscosus vini bezeichnet, ohne daß es übrigens gelungen wäre, denselben absolut rein von anderen

Organismen zu erhalten. Derselbe bildet ziemlich dünne, verhältnismäßig lange Stäbchen, die oft zu bis 14 μ langen Schleimketten aneinander gereiht sind und im zähen Weine in größter Menge vorkommen. Gesunde Weine, welche mit diesem Bacillus geimpft und zum Zweck des Abschlusses der Luft mit einer Oelschicht bedeckt waren, wurden nach 4—8 Wochen zähe. Der obligat anaërobe Organismus bildet aus dem Traubenzucker des Weines Schleim, Kohlensäure und Mannit, letzteren jedoch wohl erst sekundär. Die primären Gärungsprodukte sind jedenfalls Kohlensäure und Wasserstoff, welch letzterer im status nascens den Traubenzucker zu Mannit reduziert.

Börsch (1) findet in einem schleimig gewordenen, mit Stärkezucker fabrizierten Weine neben Hefe eine Sarcina und sieht dieselbe, welche er für identisch mit Sarcina flava de Bary hält, die aber nach der Beschreibung und Abbildung in das Genus Micrococcus gehören dürfte, als Ursache der zähen Beschaffenheit an. Infektionsversuche blieben ohne den zu erwartenden Erfolg.

In einem fadenziehenden Schalksberger fand Aderhold (2) einen Diplococcus (Diplococcus I) in solcher Menge, daß er denselben, obwohl Infektionsversuche resultatlos blieben, unbedenklich als Urheber der Erkrankung anspricht. Neben einem anscheinend weniger verbreiteten, durch größere Einzelzellen ausgezeichneten Diplococcus II scheint er auch bei der Zersetzung absterbender Hefe eine Rolle zu spielen. Vielleicht sind die beiden Organismen insbesondere beteiligt bei jenen Fällen der Schleimbildung, wo dieselbe auf die Zersetzung der Hefe zurückzuführen ist (Neßler 2, 3), eine Krankheit, die natürlich von dem eigentlichen Zähewerden, der Bildung des Schleimes aus dem Zucker des Jungweines, vollständig verschieden und der letzteren nur rein äußerlich ähnlich ist.

Wohl die gefährlichste und verbreitetste aller Weinkrankheiten ist der sogen. Essigstich, hervorgebracht durch Mikroorganismen, welche den Alkohol zu Essigsäure oxydieren. Bei einiger Sorgfalt würde dieser vielfach auftretende Weinfehler leicht zu vermeiden sein, da er nur in Mosten und Weinen sich einstellen kann, zu denen die Luft freien Zutritt hat. Pasteur nannte den Urheber der Essiggärung des Alkohols Mycoderma aceti (2). Derselbe bildet kürzere oder längere Stäbchen und gehört zu den Bakterien. Zuerst hat Hansen (1) die Essiggärung, allerdings zunächst des Bieres, näher studiert und unterscheidet zwei Essigbakterien, neben dem Bacterium aceti noch das Bacterium Pastorianum, dessen Decken sich unter gewissen Ernährungsbedingungen mit Jod blau färben (2, 3). Ganz neuerdings fügte er diesen beiden Arten noch eine dritte, das Bacterium Kützingianum hinzu, das mit dem B. Pastorianum die Eigenschaft der Blaufärbung durch Jod unter gewissen Vegetationsbedingungen teilt, sich aber durch einige Eigenschaften der Decken und der Kulturen auf Würzegelatine unterscheidet. Schon 1887 entdeckte Brown (1) ein Essigbacterium, die sogen. Essigmutter, welches knorpelige Zooglöen bildet, die sich mit Jod und Schwefelsäure resp. Chlorzinkjod blau färben und deren Membran aus Cellulose besteht. Er nennt den Organismus Bacterium xylinum. Die Essigbakterien des Weines speziell studierte Wer-

mischeff (1) im Pasteur'schen Laboratorium und fand mindestens zwei verschiedene Arten, über deren Beziehungen zu den seither bekannten wir aber in Ungewißheit gelassen werden. Die eine ist vielleicht mit einer der älteren Hansen'schen Arten identisch, die andere dagegen gleich in ihrem Verhalten dem Bacterium xylinum Brown's. Nach Kramer (5) kommt im Wein besonders das Bacterium aceti vor. Jedenfalls ist kein Zweifel, daß es zahlreiche Formen von Weinbakterien giebt, welche die Umwandlung des Alkohols in Essig verursachen können.

Die Angabe von Schulz (1), daß der Kahmpilz im Weine Essigsäure bilde, wurde bis vor kurzem für irrtümlich gehalten und sein Befund darauf zurückgeführt, daß er nicht mit Reinkulturen des Kahmpilzes gearbeitet hat, und daß seinem Kahmmaterial wahrscheinlich Essigbakterien beigemengt waren. Indessen scheint es nichts weniger als ausgeschlossen, daß es auch unter den kahmhautartig wachsenden Sproßpilzen Essigsäurebildner gebe, insbesondere nachdem Lafar (1) für einen von ihm aus dem Geläger einer Bierbrauerei isolierten Sproßpilz die Fähigkeit der Essigsäurebildung nachgewiesen hat.

Im übrigen weist Preyß (1) mit Recht darauf hin, daß sicherlich nicht alles, was der Praktiker als Essigstich des Weines bezeichnet, auf die Bildung resp. das Vorhandensein von Essigsäure zurückgeführt werden kann. Insbesondere beruht nach ihm der Stich von Tokayer und Toskaner Weinen wenigstens zum Teil auf der Bildung einer noch nicht identifizierten, gewiß aber von der Essigsäure verschiedenen Säure durch Mikroorganismen.

Der Essigstich ist jedenfalls die schädlichste und verbreitetste unter allen Weinkrankheiten, schädlich nicht nur dadurch, daß schon geringe Mengen Essigsäure den Wein zum Genusse untauglich und widerlich schmeckend machen, sondern ganz besonders weil beim Vorhandensein selbst von Spuren von Essigsäure die Gärung schon stark verlangsamt und dadurch das Auftreten aller möglichen anderen Krankheiten, insbesondere auch das Langwerden sehr begünstigt wird. Die hemmende Wirkung der Essigsäure auf die Gärung ist neuerdings von Lafar (2) eingehend untersucht worden. Freie Säuren (Aepfel- und Weinsäure), sowie hoher Alkoholgehalt hemmen übrigens das Wachstum der Essigbildner im Weine in hohem Grade. Auch die Kohlensäure hemmt das Wachstum der Essigbakterien nach Aderhold (1), tötet sie aber nicht.

Dieselben Bestandteile des Mostes resp. Weines, speziell der Säuregehalt, wirken auch dahin, daß die Bakterien der Milch- und Buttersäuregärung relativ selten im Traubenmost und in den meisten Obstmosten auftreten. Nur der Birnenmost neigt allerdings vielfach zum Milchsäurestich, zum „Zickendwerden". Die Bildung von Milchsäure im Wein führte zuerst Pasteur (1) auf die Thätigkeit eines organisierten Ferments, eines Spaltpilzes, zurück. Welche von den zahlreichen, bisher bekannten Milchsäurebakterien die Krankheit des Weines hervorrufen oder ob eigene Milchsäurebildner die Urheber des Milchsäurestichs sind, ist bisher fast unbekannt. Müller-Thurgau (6). der bei den 1893er säurearmen Weinen ein häufiges Auftreten der Krankeit beobachtete, fand als Urheber einen Bacillus von 1,5—2 μ

Länge und 0,3 μ Breite, der außer dem Zucker auch die Gerbsäure sowie andere Bestandteile von noch unbekannter Natur in Milchsäure umwandelt. Infektionsversuche zeigten zum Ueberfluß klar, daß der isolierte Mikroorganismus eine Milchsäuregärung in sterilisiertem und unsterilisiertem Moste hervorzurufen vermag. Die Säuerung war intensiver in der Versuchsreihe, wo die ursprüngliche Säure des Mostes vor der Infektion abgestumpft worden war. Kramer (5) vermochte mit Bacillus acidi lactici Hueppe und einem aëroben Buttersäurebildner, dem Urheber der Kartoffelfäule, einen sterilisierten, 5 Proz. Alkohol enthaltenden Wein, dem 0,8 Proz. Traubenzucker und ca. 0,1 Proz. Pepton zugesetzt, und dessen Säuregehalt durch kohlensauren Kalk auf 0,15 Proz. herabgemindert war, in Milch- und Buttersäuregärung zu versetzen, das Zickendwerden also hervorzubringen.

Eine weite Verbreitung des Milchsäurestichs wurde von Mach und Portele (1) in Tirol, besonders in den Jahren 1882 und 1883 beobachtet. Die in der Ebene (Etschniederungen) gelegenen Weingärten wurden in diesen Jahren zur Herbstzeit von Ueberschwemmungen der Etsch heimgesucht, und nach dem Ablaufen des Wassers zeigten sich die Trauben von einer dünnen, an kohlensaurem Kalk und kohlensaurer Magnesia reichen Schlammkruste überdeckt. Wurden solche Trauben direkt gemaischt, und der Most auf den Trestern vergären gelassen, so fand natürlich eine starke Abstumpfung der Säure statt, und diese Säureverminderung hatte den Eintritt von Milch- und Buttersäuregärung zur Folge. Die Analysen zeigten hier, daß außer dem Zucker auch der Weinstein in hohem Grade von den Bakterien verbraucht wurde. Im Most von Trauben, die vor dem Maischen mit verdünnter Schwefelsäure und dann mit Wasser gewaschen wurden, trat der Milchsäurestich nicht auf, ein Beweis, daß die Entsäuerung hier den Most erst zur Erkrankung disponierte.

Unter dem Umschlagen oder Brechen (la tourne, la pousse) des Weines, einer der schädlichsten Weinkrankheiten, die zum Glück weit seltener ist als der Essigstich, versteht man ein völliges Verderben, dem besonders nicht sehr alkoholreiche Rotweine ausgesetzt sind und das sich zunächst in einer Trübung und schwachen Kohlensäureentwickelung („Versieden") äußert. Dabei erhält der Wein einen widerwärtigen Geruch und Geschmack und wird absolut ungenießbar. Weißweine, die von der Krankheit befallen sind, werden braun, der Rotweinfarbstoff wird zersetzt. Umgeschlagener Wein zeigt, worauf Pasteur (1) zuerst hinwies, zahlreiche Bakterien, insbesondere Stäbchenbakterien von 1—1,5 μ Dicke und 3—5 μ Länge, oft in längere Fäden vereinigt.

Kramer (4) unterwarf umgeschlagenen Wein einer genaueren bakteriologischen Untersuchung und isolierte aus demselben nicht weniger als 9 verschiedene Bakterien, darunter 7 Bacillen (Bacillus saprogenes vini 1—7) und 2 Mikrokokken (Micrococcus saprogenes vini 1—2), alle aërob und Gelatine energisch verflüssigend. Dagegen gelang es ihm nicht, alkoholarme Weine durch Impfen mit den isolierten Mikroorganismen einzeln oder in beliebigen Kombinationen krank zu machen; sie wuchsen erst, als er dem Wein

ca. 3 Proz. Pepton zusetzte und brachten dann allerdings auch die charakteristischen Veränderungen hervor. Auch Wortmann (2) isolierte aus umgeschlagenen Rotweinen mehrere Bakterienarten, ohne daß eine Infektion damit gelungen wäre. Eigenartige Dispositionen, höchstwahrscheinlich insbesondere eine von der normalen abweichende chemische Zusammensetzung, müssen also vorhanden sein, um die Erkrankung zu ermöglichen. Damit stimmen auch Kramer's Untersuchungen (4), sowie die Ausführungen von Preyß überein, der die Häufigkeit des Brechens bei Ungarweinen auf deren hohen Stickstoffgehalt zurückführen will (2).

Kramer (4) sieht auf Grund seiner Untersuchungen im Umschlagen des Weines einen speziellen Fall der fauligen Gärung und hält bezüglich der Umsetzungen im erkrankten Weine die Zersetzung der Eiweißstoffe für das Primäre. Erst sekundär werden auch Weinsäure und andere Extraktstoffe zersetzt. Die von ihm isolierten Bakterien zersetzten Weinsäuresalze erst, wenn der Lösung größere Mengen Pepton (3 Proz.) zugesetzt, oder wenn die Salze in Bouillon gelöst wurden. Als Produkte der Eiweißzersetzung im Weine stellt er Kohlensäure, Ammoniak, Wasserstoff und geringe Mengen von Fettsäuren hin, während die größere Menge der letzteren auf die Zersetzung der freien Säuren und ihrer Salze zurückzuführen sein dürfte.

Daß beim Umschlagen der Weine der Weinstein bis zum völligen Verschwinden zersetzt wird, hat schon Schultz (1) nachgewiesen, dem es auch gelang, gesunden Rotwein durch Zusatz von krankem zu infizieren. Vom November bis Januar war der Weinsteingehalt des infizierten Weines von 2,852 g im Liter auf 0 gesunken, der Gehalt an flüchtigen Säuren von 1,076 g auf 4,234 g gestiegen. Der Tanningehalt blieb unverändert. Von flüchtigen Säuren fand er Essig-, Propion-, Butter- und Valeriansäure. Macagno (1) kam zu ähnlichen Resultaten, fand aber auch eine merkliche Verminderung des Alkoholgehaltes und wies von Säuren nach: Essig-, Metaceton- (? wahrscheinlich identisch mit Propionsäure; cf. Duclaux 1), Butter- und Milchsäure. Gautier (1) will Tartronsäure im umgeschlagenen Weine nachgewiesen haben, die nach Kramer (4) vielleicht durch Oxydation des Glycerins entstanden ist. Carles (1) bestätigte im wesentlichen die früher erhaltenen Resultate, wies ferner die Abnahme des Glycerins nach und giebt an, daß der Farbstoff langsam in humusartige Stoffe übergehe. Kramer (4) fand als Zersetzungsprodukte der Wein- und Aepfelsäure, sowie des Weinsteins in den meisten untersuchten Weinen Ameisen-, Essig-, Butter- und Milchsäure, aber in sehr wechselndem Verhältnis. Bernsteinsäure sowie Propionsäure wurden nur in einem Teil der umgeschlagenen Weine gefunden und scheinen sich gegenseitig auszuschließen. Ameisensäure fand auch Reusch (1) bei der von ihm beobachteten Weinkrankheit.

Die Identität der Krankheit, an der die als vins mildiousés bezeichneten Weine leiden, mit dem Umschlagen glaubt Gayon (1) nachgewiesen zu haben, indem er dieselben flüchtigen Säuren, Essig- und Propionsäure, im vin mildiousé auffand, welche Duclaux im vin tourné gefunden hatte. Die Organismen des vin mildiousé sind Stäbchenbakterien, oft in längere oder kürzere Ketten vereinigt,

welche anaërob zu sein scheinen. In den kranken Flaschenweinen bildeten sie einen dicken Bodensatz. Daß eben die von peronosporakranken Reben stammenden Weine vielfach an der Krankheit — daher ihr Name — leiden, dürfte daran liegen, daß gerade solche Weine wegen ihrer Alkoholarmut zum Umschlagen besonders neigen. Die Peronospora hat direkt natürlich nichts mit der Weinkrankheit zu thun. Jedenfalls steht auch die von Bordas (1) kurz beschriebene bei Algier beobachtete Weinkrankheit dem sogen. Umschlagen sehr nahe. Sie soll sich davon nur dadurch unterscheiden, daß der Weinfarbstoff nicht verändert wird. Die unbeweglichen Stäbchen, welche Bordas in dem kranken Weine fand, sollen aus Weinstein Tartronsäure und Essigsäure bilden.

Die gleichen flüchtigen und fixen Säuren, die im umgeschlagenen Weine vorhanden sind, fand van Laer (1) als Gärungsprodukte des von ihm aus umgeschlagenem Bier isolierten Saccharobacillus Pastorianus, der, gesundem Bier zugesetzt, in diesem die charakteristischen Erscheinungen des Umschlagens hervorrief. Derselbe ähnelt den von Pasteur beobachteten Organismen des umgeschlagenen Weines nach van Laer ganz außerordentlich. Auch sind die beiden Krankheiten, das Brechen des Weines und das Umschlagen des Bieres, einander sehr ähnlich. Sie unterscheiden sich eigentlich nur durch die fortdauernde Kohlensäureentwickelung im gebrochenen Weine, welche im Biere wenigstens nicht augenfällig ist, sowie durch die Natur der der Zersetzung anheimfallenden Substanz; im Biere werden Kohlehydrate, im Weine andere Extraktbestandteile, insbesondere die Säuren und ihre Salze zersetzt. Uebrigens wächst der Saccharobacillus Pastorianus nach van Laer's Untersuchungen auch in säurearmen Weinen sowie in Aepfelwein, hier ganz ähnliche Veränderungen wie im Biere hervorbringend.

Am meisten ähnelt nach van Laer der Organismus des gebrochenen Bieres dem von Pasteur (1) beschriebenen Organismus des bitteren Weines. Die Krankheit des Bitterwerdens befällt insbesondere die besseren Burgunderweine, seltener auch die Bordeauxweine. Von den deutschen Weinen sind insbesondere die Ahrweine der verderblichen Krankheit unterworfen. In südlichen Weingebieten, insbesondere Italien, ist das Bitterwerden häufig. Gewöhnlich werden die Weine erst nach mehr-(2—3)jährigem Lagern, vielfach erst nach dem Abziehen auf Flaschen bitter. Rotweine neigen, wie aus dem über die Verbreitung der Krankheit Mitgeteilten hervorgeht, mehr zum Bitterwerden als Weißweine.

Der kranke Wein erhält zunächst einen eigentümlichen Geruch, seine Farbe wird weniger lebhaft, der Geschmack fade. Der Farbstoff wird endlich ganz zerstört, und der Wein erhält einen widerwärtigen bitteren Geschmack, so daß er ganz ungenießbar wird.

Pasteur faßt als Ursache der Krankheit ein Stäbchenbacterium auf, das er in größter Menge im bitteren Weine fand und das sich von dem Bacterium des umgeschlagenen Weines durch größere Dicke und deutlichere Gliederung unterscheidet. Das Bacterium des bitteren Weines inkrustiert sich stark mit dem Farbstoffe des Weines und erscheint dadurch dicker und stellenweise knorrig.

Das Bitterwerden der Ahrrotweine wurde von Neubauer (1) einer eingehenden Untersuchung unterworfen. Er fand denselben Organismus wie Pasteur und wies außerdem nach, daß der bittere Geschmack, den man bis Mulder ohne Grund auf die Gegenwart von Citronensäureäther im Weine zurückgeführt hatte, nicht dem Organismus als solchem, sondern einer jedenfalls von ihm gebildeten und im Wein gelösten, auch beim Kochen nicht flüchtigen Substanz eigen ist.

Perroncito und Maggiora (1) geben an, daß es ihnen gelungen sei, durch Zusatz von Bouillonkulturen der in bitteren Jungweinen gefundenen Mikroorganismen gesunde alkoholarme Weine bitter zu machen. Bei Weinen mit 8,5 Prozent Alkoholgehalt und darüber gelang die gleiche Infektion jedoch nicht. Kramer (5) dagegen gelang die Infektion gesunder Weine mit den in einem bitteren Weißwein des österreichischen Küstenlandes vorhandenen Mikroorganismen nicht.

Neuerdings fand Aderhold (2) einen bitteren Ahrweiler Rotwein sowie einen ebenfalls kranken Kreuznacher Wein reich an einem Bacillus, der in langen Ketten mit scharfen Knickungen auftrat und sich durch außerordentliche Dünne seiner Zellen bei vielmal größerer Länge auszeichnete, und ist geneigt, diesen Mikroorganismus, der übrigens im Trub gesunder Rotweine eine sehr häufige Erscheinung war, für die Ursache der Krankheit zu halten. Reinkultur desselben gelang nicht, obwohl er in einer mit 2 Proz. Rotwein versetzten Fleischbrühe neben anderen Organismen üppig gedieh.

Was die Veränderungen angeht, welche die einzelnen Weinbestandteile beim Bitterwerden erleiden, so ist darüber kaum mehr bekannt als über den Verursacher dieser Weinkrankheit. Die Resultate der Pasteur'schen Untersuchung bezüglich des Verhaltens vom Weinstein sind einander widersprechend. Nach der einen Methode fand er den Weinsteingehalt konstant, nach der anderen um ca. 30 Proz. vermindert. Der Gesamtsäuregehalt der bitteren Weine war um fast 1 Proz. gestiegen, der Glyceringehalt vermindert, aber nicht genug, um die Säurevermehrung zu erklären. Neubauer fand den Gesamtsäuregehalt im normalen und im bitteren Weine fast gleich; derselbe betrug bei ersterem 0,529, bei letzterem 0,548 Proz. Eine nennenswerte Vermehrung der freien Säuren war also trotz hochgradiger Bitterkeit nicht eingetreten. Die Farbstoff- und Gerbstoffbestimmungen in den beiden Proben ergab für den ursprünglichen Wein 2,313 g pro Liter, für den bitter gewordenen 2,085 g. Ein Teil des Farb- resp. Gerbstoffes war also zerstört.

Die beiden Krankheiten, das Bitterwerden und das Umschlagen des Weines, sind jedenfalls nach dem heutigen Standpunkte der Frage weder bezüglich der Natur des Erregers der Krankheit noch bezüglich der im Weine hervorgerufenen Veränderungen scharf zu unterscheiden. Vielleicht haben, was auch für die anderen Weinkrankheiten vielfach gelten dürfte, den bisherigen Beobachtern zum Teil nicht reine Krankheiten, sondern Mischinfektionen vorgelegen, Weine, in denen neben dem Organismus des Bitterwerdens auch die Bakterien des umgeschlagenen Weines ihre Thätigkeit entfalteten. Sicher war das der

Fall bei den Weinen, welche Duclaux bei seinen Untersuchungen (1) vorlagen. Pasteur spricht übrigens selbst schon die Vermutung aus, daß man unter dem Namen: umgeschlagener Wein (vin tourné) ganz verschiedene Krankheiten zusammenfasse.

Duclaux bewahrte von den Weinen, welche er gelegentlich seiner Etudes sur le vin (Annales de Chimie et de Physique. 5. série. t. II. 1874) im Jahre 1872 untersucht hatte, Proben in Glasflaschen teils pasteurisiert, teils ohne weitere Behandlung auf und untersuchte die pasteurisierten Proben erst wieder 1893, die anderen 1884 nach 21- resp. 12-jähriger Aufbewahrung. Die 4 Proben, welche vor der Aufbewahrung erhitzt waren, zeigten bei der Untersuchung kaum einen Unterschied bezüglich ihrer Zusammensetzung gegenüber der Befunde zur Zeit des Pasteurisierens. Anders die nicht pasteurisierten Proben der beiden Weine, welche Krankheitskeime des umgeschlagenen und bitteren Weines führten. In einem derselben, welcher bei der ersten Untersuchung mehr umgeschlagen als bitter war, war die Menge der Gesamtsäure, als Essigsäure berechnet, von 6,84 g auf 9,60 g im Liter gestiegen; die Säure verteilte sich bei den beiden Untersuchungen in folgender Weise: Ein Liter Wein enthielt:

	1872	1884
Essigsäure	2,58 g	3,94 g
Propionsäure	2,56 g	3,91 g
Nicht flüchtige Säure als Essigsäure berechnet	1,84 g	2,5 g

Der andere Wein, der weit mehr Organismen des vin amer als des vin tourné führte, ergab folgende Zahlen pro Liter:

	1872	1884
Gesamtsäure als Essigsäure berechnet	6,0 g	8,6 g
Flüchtige Säure	1,9 g	4,0 g
Also fixe Säure	4,1 g	4,6 g

Die flüchtige Säure bestand aus Essigsäure und wenig Buttersäure und zwar enthielt der Wein im Liter:

	1872	1884
Essigsäure	1,85 g	3,88 g
Buttersäure . . .	0,08 g	0,17 g

Durch die Natur der flüchtigen Säuren unterscheiden sich also beide Weine, der mehr umgeschlagene und der mehr bittere, sehr deutlich. Jedoch sind sie kaum geeignet, die Ansicht, welche auch Duclaux äußert, zu stützen, daß beim Umschlagen des Weines die fixen Säuren verschwinden, während sie beim Bitterwerden sich vermehren und daß hierin der wesentliche Unterschied beider Krankheitserscheinungen bestehe. Man wird dagegen Duclaux beistimmen, daß erst von der Reinzucht der beteiligten Organismen Klarheit über dieselben zu erwarten ist.

Großes Aufsehen erregte eine neue Weinkrankheit, die erst vor kurzem entdeckt wurde und die sich durch das Auftreten von Mannit im Wein zunächst bemerklich machte. Ein Gehalt von Mannit wurde zuerst 1891 von Carles (2) in Algierweinen festgestellt und auf einen Verschnitt des Traubenweines mit dem meist mannithaltigen Feigenwein zurückgeführt. Der Einwand, welchen die algerischen Händler gegen die Verdächtigung der mannitführenden Weine

vorbrachten, daß die Traubenbeeren bei anhaltendem Wehen von Sirocco eintrockneten und Mannit bildeten, entkräftete Carles dadurch, daß er in keinem der aus unverdächtiger Quelle und zwar aus Gegenden, die im Sommer vorher stark durch Sirocco gelitten hatten, bezogenen Algierweine Mannit auffinden konnte. Von einigen Seiten wurden die Resultate Carles bestätigt, von anderen aber Mannit in unzweifelhaften Naturweinen angegeben, insbesondere auch von Portes (1). Auch in französischen Weinen wurde bald Mannit gefunden, nachdem schon Lafaurie auf den längst bekannten Mannitgehalt eines Bordeauxweines, des Château-Yquem, aufmerksam gemacht hatte. Als Resultat des ganzen wissenschaftlichen Streites erschien die von Dugast und von Jégou (1) geäußerte Ansicht, daß nur unvollkommen vergorene und irgendwie kranke Weine Mannit enthalten. Daß große Wärme dabei eine Rolle spiele, schien daraus zu folgen, daß in den heißen Jahren 1892 und 1893 mannithaltige Weine in Frankreich nichts weniger als zu den Seltenheiten gehörten. Dieses häufige Auftreten des Mannits gab denn auch Gelegenheit zu einer gründlichen Erforschung der ganzen Frage, durch welche der letzte Zweifel beseitigt wurde, daß man es bei dem Mannitvorkommen im Algierwein, wenigstens zum Teil, nicht mit Verfälschungen, sondern mit einer fehlerhaften Gärung zu thun habe [1]).

Gelöst wurde die Frage nach dem Ursprung des Mannits im algerischen Weine durch Gayon und Dubourg (1). Sie fanden Mannit, wie schon ihre Vorgänger, in französischen, algerischen und spanischen Weinen, häufiger in Rot- als in Weißweinen. Bei 5 Weinen, die sie näher untersuchten (ein 1891er, vier 1892er) wechselte der Mannitgehalt von 8,6 bis 31,46 im Liter, Zahlen, die weit über die bisher z. B. von Dugast (1) beobachteten hinausgehen. Als sie von dreien dieser mannithaltigen Weine Proben teils pasteurisierten, teils ohne weitere Behandlung sich selbst überließen, blieb der Zucker- und Mannitgehalt in den erhitzten Proben derselbe, in den nicht erhitzten nahm der Zuckergehalt ab, der Mannitgehalt zu, wie die Tabelle anzeigt.

	No. I. Französ. Rotwein (1892)	No. II. Französ. Rotwein (1892)	No. IV. Algerisch. Rotwein (1892)
Dauer des Versuches . .	8 Monate	8 Monate	9 Monate
Verlust an Zucker pro Liter	5,60 g	4,73 g	16,05 g
Gewinn an Mannit „ „	2,00 g	1,62 g	13,32 g

Die mannithaltigen Weine zeichnen sich, wie die Analysen Gayon's und Dubourg's darthaten, auch durch einen abnorm hohen Gehalt an unvergorenem Zucker, sowie an flüchtigen und fixen Säuren aus. Der Weinstein wird jedenfalls nicht angegriffen; der Extraktgehalt ist ungewöhnlich hoch, zum Teil infolge der Mannitbildung.

Wie die Versuche deutlich beweisen, ist ein Organismus die Ursache der Mannitbildung, und es gelang, denselben aus einem weißen Algierwein zu isolieren als kurze, unbewegliche Stäbchen, die sich in

---

1) Eine historische Darstellung der ganzen Frage findet man in der Zeitschrift für Nahrungsmitteluntersuchung, Hygiene und Warenkunde. VII. 1893. No. 2. p. 22 und No. 16. p. 284, sowie daraus in der Weinlaube XXV. 1893. No. 46. p. 545.

großer Zahl zu sehr cohärenten Zooglöen vereinigen. In Most und zuckerhaltigem Weine gedeiht der Bacillus gut, noch besser in Lösungen von Invertzucker, denen 2—3 Proz. Liebig's Fleischextrakt zugesetzt ist. Gas wird nicht entwickelt. Der Organismus ist fakultativ anaërob. Invertzucker wird zu Mannit reduziert, im Anfange sehr energisch, später wird die Mannitbildung schwächer und erreicht ihre Grenze bei einem Gehalt der Flüssigkeit an Mannit von 25—50 g pro Liter, je nach den äußeren Umständen wechselnd. Die Säurebildung schreitet der Mannitbildung parallel.

Die gebildeten flüchtigen und fixen Säuren setzen der Mannitgärung ein Ziel. Ueberhaupt zeigten Versuche, daß in Nährlösungen die Mannitbildung unter sonst gleichen Umständen um so schwächer war, je mehr Säure dieselben zur Zeit der Infektion enthielten. Die gebildeten Säuren sind Milchsäure und Essigsäure.

In einer Lävuloselösung (durch Hydrolyse von Inulin erhalten), erhielten Gayon und Dubourg in 19 Tagen folgende Veränderungen durch eine Reinkultur des Organismus der Mannitgärung:

Verschwunden pro Liter an Lävulose	49,50 g
Gebildet Mannit	35,66 „
„ Milchsäure	5,01 „
„ Essigsäure	7,47 „

Es gelang auch, künstlich durch gleichzeitigen Zusatz von Hefe (Saccharomyces Pastorianus) und Mannitferment zuckerhaltige Bouillon zugleich in Alkohol- und Mannitgärung zu versetzen. Bei niederem Alkoholgehalt wird die letztere nicht oder nur unwesentlich gehemmt, anders dagegen bei hohem Alkoholgehalt, der ebenso wie hoher Zuckergehalt und Reichtum an natürlicher Säure die Mannitgärung verhindert.

Durch Gayon und Dubourg's Untersuchungen wurde endlich auch der die Krankheit begünstigende Einfluß von Temperaturen über 36° C festgestellt, die einmal die alkoholische Gärung hemmen, ferner aber auch das Gedeihen der Krankheitsursache fördern, und so möchte man geneigt sein, die Mannitgärung des Weines, die erst vor kurzem die Aufmerksamkeit auf sich gezogen hat, für eine der best bekannten Weinkrankheiten zu halten. Daß übrigens Mannit auch auf anderem Wege in den Wein gelangen kann, folgt z. B. aus der schon mitgeteilten Thatsache, daß der von Kramer gefundene Organismus der schleimigen Gärung den Zucker zu Mannit reduziert, und aus der Ueberlegung, daß Mannit als Stoffwechselprodukt von Schimmelpilzen, speziell Penicillium glaucum, regelmäßig gebildet wird, und es also nicht unmöglich wäre, daß bei der Verwendung fauler Traubenbeeren aus den Pilzfäden Mannit in den Most gelangt [1]).

Eine bisher unbekannte Krankheit fand Müller-Thurgau (7)

1) So wäre es nicht unmöglich, daß der Mannitgehalt des Château-Yquem von den Pilzhyphen des Botrytis in den edelfaulen Beeren herrührt, die zur Herstellung des genannten Weines Verwendung finden. Schon Borgmann (Anleitung zur chemischen Analyse des Weines. Wiesbaden 1884, p. 68) fand Mannit im Wein, sah es aber als Produkt einer schleimigen Gärung an. Auch die chemische Versuchsstation Klosterneuburg wies wiederholt Mannit als Weinbestandteil nach.

in einem Ingelheimer Rotwein, der im Faß vollständig ausgebaut und klar auf Flaschen gezogen war. In diesen hatten sich nach Jahresfrist rundliche, schrotähnliche Körner eingestellt, die der Flaschenwand, meist dem Boden anhafteten, sich aber größtenteils bei leichtem Bewegen der Flasche loslösten. Die Größe der Körner, von denen sich bis zu 100 in einer Flasche fanden, war sehr verschieden und wechselte von kaum sichtbaren Pünktchen bis zu 4,5 mm Durchmesser. Der Farbenton des Weines war etwas dunkler als im normalen Zustande; Geschmack und Geruch waren allerdings nur wenig beeinflußt, doch war der kranke Wein immerhin nicht mehr so gut wie vorher. Der Wein war im übrigen vollständig klar.

Die Untersuchung der zähen, klebrigen Kugeln ergab, daß sie förmliche Reinkulturen eines stäbchenförmigen Spaltpilzes vorstellten, für den Müller-Thurgau den Namen Bacillus piluliformans vorschlägt. Die Länge der Stäbchen schwankt zwischen 3 und 10,5, meist zwischen 4 und 6 μ, ihre Breite beträgt 0,75 μ.

Obwohl die Krankheit in dem Stadium, wo sie zur Untersuchung gelangte, kaum einen nachteiligen Einfluß auf die Güte des Weines ausgeübt hatte, so erscheint doch die Vermutung als begründet, daß bei längerem Lagern sich wohl noch eine größere Schädigung des Weines eingestellt haben würde. Jedenfalls trug das Vorhandensein der Kugeln im Weine zum besseren Aussehen des Weines nicht bei und verminderte dadurch den Handelswert. Da sämtliche Flaschen die eigentümliche Erscheinung zeigten, so vermutet Müller-Thurgau, daß der Wein entweder mit den Krankheitskeimen schon im Faß behaftet war, oder daß eine Infektion der Flaschen durch das Spülwasser erfolgt ist, welch letztere Ansicht wohl die größere Wahrscheinlichkeit für sich haben dürfte.

Anhangsweise sei noch eine Krankheit kurz besprochen, deren Beziehungen zu Mikroorganismen allerdings sehr fraglich, nach dem augenblicklichen Stand der Frage sogar ziemlich unwahrscheinlich sind. Es ist dies das Braun- oder Rahnwerden der Weine (le cassage), eine bei Weiß- und Rotweinen auftretende Krankheit, die sich zuerst darin äußert, daß der im Fasse noch klare Wein sich im Glase bräunt und trübt. Dasselbe geht langsamer auch im Faß vor sich. Ein brauner Niederschlag setzt sich aus dem Weine ab, und auch der Geschmack wird mit dem Fortschreiten der Krankheit immer unangenehmer. Neßler (1, 2) hat zuerst gezeigt, daß Luftzutritt zum Eintreten der Braunfärbung notwendig ist, und daß dieselbe auf einer Oxydation beruht. Säurearme Weine sind der Krankheit besonders stark ausgesetzt. Das beste Mittel gegen diese Krankheit ist starkes Einbrennen mit Schwefel. Selbst stark gebräunte Weine lassen sich dadurch vollständig wieder herstellen. Aber auch das Pasteurisieren des im Fasse noch hellen, aber an der Luft sich bräunenden Weines genügt, um den zur Erkrankung neigenden Wein vollständig zu heilen (Müller-Thurgau 5). Das läßt die Vermutung aufkommen und nicht unbegründet erscheinen, daß eine Mitwirkung von Mikroorganismen beim Braunwerden stattfindet, welche durch die Erhitzung auf 60° getötet und unschädlich gemacht werden. Gautier (2) giebt denn auch an, in solchem kranken Weine Or-

ganismen gefunden zu haben, welche den von Pasteur abgebildeten Bakterien des umgeschlagenen Weines gleichen. Auch fand er in dem trüben Weine keinen Weinstein mehr, dagegen Essigsäure und Milchsäure. Danach scheint Gautier jedoch eine kompliziertere Krankheitserscheinung vor sich gehabt zu haben, bei der Rahnwerden und Brechen beteiligt waren. Beim Braunwerden wird sonst der Weinsteingehalt nicht merklich verändert.

Nach neueren Untersuchungen von Gouirand (1) und Bouffard (1) soll ein nicht organisiertes Ferment im Most und Wein vorhanden sein, das, der von Bertrand gefundenen Laccase ähnlich, gewisse, den Phenolen nahestehende Stoffe, z. B. Gerbstoffe, Hydrochinon u. s. f. oxydiert und z. T. in unlösliche Verbindungen überführt. Gouirand will das Ferment aus krankem Weine ausgefällt und durch Zusatz desselben zu gesundem Weine diesen krank gemacht haben. Von einer Hefe des braunen Weines wird das Ferment nicht gebildet, ebensowenig findet es sich im umgeschlagenen Weine. Ungewiß läßt Gouirand nur noch, ob das Ferment von irgend einem Organismus des der Untersuchung zu Grunde liegenden Weines gebildet war, oder ob es aus der Traube stammt und hier vielleicht unter besonderen Umständen gebildet wird. Martinand (1) wies das normale Vorkommen des Laccasefermentes in den Traubenbeeren nach, wo es besonders in der Umgebung der Kerne vorhanden sei. Die vorbeugende Wirkung des Pasteurisierens würde sich dann einfach erklären, indem durch das Erhitzen das Enzym unwirksam gemacht würde.

Weitere Forschungen müssen über die Natur dieser Krankheit weiteres Licht verbreiten, wie denn überhaupt unsere Kenntnis der Weinkrankheiten noch in den Kinderschuhen steckt und ein Fortschritt nur von dem genauen bakteriologischen Studium der Einzelfälle zu erwarten ist.

Literaturverzeichnis.

Aderhold, R. (1), Ueber den Einfluß der Kohlensäure auf die normale Gärung störende Organismen mit Bemerkungen über die Konservierung des Weines. (Mitteilungen über Weinbau und Kellerwirtschaft. IV. 1892. No. 9/10. p. 132 ff.)

— — (2), Die Morphologie der deutschen Saccharomyces ellipsoideus-Rassen (Untersuchungen über reine Hefen. III. Teil). (Landw. Jahrb. XXIII. 1894. p. 587 ff.)

Babo, A. von und Mach, E. (1), Handbuch des Weinbaues und der Kellerwirtschaft. Bd. II. Kellerwirtschaft. 2. Aufl. Berlin 1885.

Bersch, J. (1), Der Rauchgeschmack. (Weinlaube. IV. 1872. p. 139 f.)

— — (2), Die Krankheiten des Weines. Wien 1873.

Beyerinck, M. W. (1), Zur Ernährungsphysiologie des Kahmpilzes. (Centralbl. für Bakteriologie und Parasitenkunde. XI. 1892. p. 68 ff.)

Börsch, K. (1), Beitrag zur Kenntnis der Bakterien des Weines. Dissertation. Erlangen 1893.

Bordas (1), Sur une maladie nouvelle du vin en Algérie. (Compt. rend. CVI. 1888. p. 85.)

Bouffard (1), Sur le cassage des vins. (Comptes rendus. T. CXVIII. Paris 1894. p. 827.)

Brown, A. J. (1), The chemical action of pure cultivations of Bacterium aceti. (Journ. Chem. Soc. 1886. p. 172)

— — (2), On an acetic ferment which forms cellulose. (Journ. Chem. Soc. 1886 p. 432.)

Carles, P. (1), Ueber das Umschlagen der Weine. Repertoire de pharmacie et journal de chimie médicale. 39. année. 1883. T. XI. No. 2. p. 59—61. (Biedermann's Centralblatt für Agriculturchemie. XII. 1883. p. 790.)

Carles, P. (2), Sur la caractéristique des vin de figue. (Comptes rendus. T. CXII. 1891. p. 811.)
Duclaux, E (1), Sur le vieillissement des vins. (Annales de l'Institut Pasteur. T. VII. 1893. p. 537 ff.)
Dugast, J. (1), Dosage de la mannite dans les vins. (Revue de viticulture. T. II. 1894. No. 32. p. 86.)
Fitz, A. (1), Notizen über die Gärung. (Annalen der Oenologie. Bd. I. 1870. p. 437 ff.)
Gautier, A. (1), Comptes rendus. T. LXXXVI. 1878. p. 1338.
— — 2), La maladie des vins cassés. (Revue de viticulture. T. I. 1894. No. 13. p. 305 f.)
Gayon, U. (1), Sur l'altération des vins dits: „mildiousés". (Revue de viticulture. T. I. 1894. p. 33 ff.)
Gayon, U. et Dubourg, E. (1), Sur les vins mannités. (Annales de l'Institut Pasteur. T. VIII. 1894. p. 108 ff.)
Gouirand (1), Sur la présence d'une diastase dans les vins cassés. (Comptes rendus hebdomadaires de l'académie des sciences. T. CXX. Paris 1895. p. 887.)
Hansen, E. Chr. (1), Mycoderma aceti et Mycoderma pasteurianum nov. spec. (Compte rendu des travaux du Laboratoire de Carlsberg. I. 2. 1879. p. 96.)
— — (2), Botanische Untersuchungen über Essigbakterien. (Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft. 1893. Generalversammlungsheft.)
— — (3), Recherches sur les bactéries acétifiantes. (Compte rendu des travaux du Laboratoire de Carlsberg. III. 3. 1894. p. 182. Essigindustrie. 1894. No. 11, 12. 1895. No. 1, 2.)
Jégon (1), Journ. de Pharm. et de Chim. XXVIII. 1893. p. 103.)
Knieriem W. von, und Mayer, Ad. (1), Ueber die Ursache der Essiggärung. (Die landwirtschaftlichen Versuchsstationen. XVI. 1873. p. 305.)
Kramer, E. (1), Einwirkung von Saccharomyces mycoderma auf Wein. (Agramer bot. phys. Inst. 1889.)
— — (2), Studien über die schleimige Gärung. (Sitzungsberichte der k. k. Akademie der Wiss. zu Wien. Math.-naturwiss. Klasse. XCVIII. Mai 1889.)
— — (3), Untersuchungen über das Zähwerden des Weines. (Weinbau und Weinhandel. 1890. p. 121.)
— — (4), Bakteriologische Untersuchungen über das Umschlagen des Weines. (Die landwirtschaftlichen Versuchsstationen. XXXVII. 1890. p. 325.)
— — (5), Die Bakteriologie in ihren Beziehungen zur Landwirtschaft und den landwirtschaftlich-technischen Gewerben II. Wien 1892. p. 122.
Kulisch, P. (1), Ueber die Abnahme der Säure in Obst- und Traubenweinen während deren Gärung und Lagerung. (Weinbau und Weinhandel. 1889. No. 42—44.)
— — (2), Beiträge zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung der Apfel- und Birnenweine. (Landwirtschaftliche Jahrbücher. XIX. 1890. p. 83.)
— — (3), Untersuchungen über das Böcksern der Weine. (Weinbau und Weinhandel. 1895. No. 1 u. 2.)
— — (4), Untersuchungen über das Böcksern der Weine. (Bericht der kgl. Lehranstalt für Obst-, Wein- u. Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. für das Jahr 1894|95. p. 77.)
— — (5), Die deutschen Ausleseweine, ihr Werden und Wesen. Vortrag, gehalten auf der Hauptversammlung der deutschen Gesellschaft für angewandte Chemie zu Frankfurt a. M. den 10. Juni 1895. (Ztschr. f. angewandte Chemie. 1895. H. 14. Mitteilungen über Weinbau und Kellerwirtschaft. VII. 1895. No. 7 u. 8/9. Weinbau und Weinhandel. 1895.)
van Laer, H. (1), Contributions à l'histoire des ferments des hydrates de carbone. (Bacille des bières tournées.) Mém. cour. de l'acad. royale de Belgique. T. XLVII. 1892.)
Lafar, Fr. (1), Physiologische Studien über Essiggärung und Schnellessigfabrikation. I. Ueber einen Sproßpilz, welcher kräftig Essigsäure bildet. (Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde. XIII. 1893. p. 684.)
— — (2), Studien über den Einfluß organischer Säure auf Eintritt und Verlauf der Alkoholgärung. I. Die Weinhefe und die Essigsäure. (Landw. Jahrbücher. XXIV. 1895. p. 445.)
M., E. (1), Botrytis cinerea und der Rauchgeschmack des Weines. (Weinlaube. IV. 1872. p. 215.)

Macagno, J. (1), Ueber die Wirkung des in den umgeschlagenen Weinen enthaltenen Fermentes (Pilze) auf gesunde Weine. Le stazione sperimentali agrarie italiane. Bd. VI. 1877. p. 79. (Biedermann's Centralblatt für Agrikulturchemie. VIII. 1879. p. 310 ff.)
Mach, E. und Portele, K. (1), Nachweis und quantitative Bestimmung von Milch- und Buttersäure in Weinen, die aus verschlämmten Trauben in verschiedener Weise hergestellt wurden. (Die landw. Versuchsstationen. XXXVII. 1890. p. 305 ff.)
— — (2), Ueber die Veränderungen im Gehalt von Gesamtsäure und Glycerin während der Gärung und Lagerung der Weine. (Landwirtsch. Versuchsstationen. Bd. XLI. 1892. p. 270 ff)
Martinand, V. (1), Action de l'air sur le moût de raisin et sur le vin. (Comptes rendus. T. CXXI. Paris 1895. p. 502.)
Martinand et Rietsch (1), Des micro-organismes que l'on rencontre sur les raisins mûrs et de leur développement pendant la fermentation. (Comptes rendus. T. CXII. 1891. p. 736 ff.)
Mayer, Ad. (1), Ueber Mycoderma vini. Untersuchungen über die alkoholische Gärung. Heidelberg 1869.
— — (2), Untersuchungen über die alkoholische Gärung und die Ernährung des Bierhefepilzes. (Die landw. Versuchsstationen. XIV. 1871. p. 32.)
Müller-Thurgau, H. (1), Die Edelfäule der Trauben. (Landwirtsch. Jahrbücher. 1888. XVII. p. 83.)
— — (2), Neue Forschungsresultate auf dem Gebiet der Weingärung und deren Bedeutung für die Praxis. (Bericht über die Verhandlungen des XI. deutschen Weinbau-Kongresses in Trier im September 1889. Mainz 1889. p. 80.)
— — (3), Ergebnisse neuer Untersuchungen auf dem Gebiete der Weinbereitung. Bericht, erstattet auf dem XII. deutschen Weinbaukongreß in Worms im September 1890. (Bericht über Verhandlungen etc. Mainz 1891. p. 128.)
— — (4), Weitere Untersuchungen über die Physiologie der Hefe und die Bedeutung ausgewählter und reingezüchteter Heferassen für die Weingärung. (III. Jahresbericht der deutsch-schweizerischen Versuchsstation und Schule für Obst-, Wein- u. Gartenbau in Wädensweil. 1892/93. p. 73 ff.)
— — (5), Das Braun- oder Rahmwerden der Weine. (Schweizerische Zeitschrift für Obst- und Weinbau. III. 1894. p. 8.)
— — (6), Der Milchsäurestich in Trauben- und Obstweinen. (III. Jahresber. der deutsch-schweiz. Versuchsstation und Schule für Obst-, Wein- und Gartenbau zu Wädensweil. 1892/93. Zürich 1894. p. 91.)
— — (7), Eine bisher nicht beschriebene Weinkrankheit. (III. Jahresbericht etc. p. 92.)
Müller-Thurgau, H. und Czéh, A. (1), Welche Vorgänge finden während der Gärung und der Weiterentwickelung des Weines statt? (Weinbau und Weinhandel. 1888. No. 15.)
Neßler, J. (1), Der Wein, seine Bestandteile und seine Behandlung. Chemnitz 1865.
— — (2), Bereitung, Pflege und Untersuchung des Weines. 4. Aufl. Stuttgart 1885.
— — (3), Ursachen des Krankwerdens der Weine. Vortrag beim Weinbaukongreß in Neustadt 1895 gehalten. (Schweiz. Zeitschrift für Obst- und Weinbau. IV. 1895. p. 281.)
Neubauer, C. (1), Studien über den Rotwein. (Annalen der Oenologie. II. 1872. p. 1.)
Pasteur, L. (1), Études sur le vin. Paris 1866. (II. édition. Paris 1878.)
— — (2), Études sur le vinaigre. Paris 1868.
Perroncito, C. und Maggiora, A. (1), Studien über bitteren Rotwein. (Nach Weinlaube. XX. 1888. p. 459.)
Portele, K. (1), Ueber die sogen. Sauerfäule bei den Trauben. (Weinlaube. XVI. 1884. p. 403.)
Portes, M. (1), Journ. de Pharm. et de Chim. T. XXVI. 1892. p. 383.
Preyß, M. (1), Ueber den Essigstich des Weines. (Annalen der Oenologie. III. 1873. p. 487)
— — (2), Oenologische Studien. I. Ueber den auffallenden Eiweißgehalt der ungarischen Weine als Ursache ihrer geringen Haltbarkeit und dessen Gegenmittel. (Weinbau. I. 1875. p. 189.)
Rees, M. (1), Botanische Untersuchungen über die Alkoholgärungspilze. Leipzig 1870.
Reusch, Fr. J. (1), Eine neue Weinkrankheit. (Pharmazeutische Zeitung. XXXVIII. 1894. p. 864.)

Roos, L. (1), Mannitgärung. (Journ. de Pharm. et de Chim. XXVII. p. 405.)
Schaffer, F. (1), De l'action du Mycoderma vini sur la composition du vin. (Annales de micrographie. 1891. No. 12.)
Schaffer, F. und v. Freudenreich, E. (1), Quantitative Untersuchungen über die in Naturweinen und Kunstweinen enthaltenen Hefen und Bakterien. (Landw. Jahrb. d. Schweiz. V. 1891. p. 79. — Ann. de micrographie. 1892. No. 5.)
Schultz (1), Ueber das Umschlagen der Rotweine. (Weinlaube. IX. 1877. No. 17. p. 303.)
Schulz, A. (1), Ueber den Stoffbedarf und den Stoffumsatz des Kahmpilzes (Saccharomyces mycoderma). (Annalen der Oenologie. VII. 1878. p. 115.)
Schulze, C. (1), Versuche über das Pasteurisieren von Wein. (Bericht der kgl. Lehranstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau zu Geisenheim a. Rh. für 1893/94. p. 64—67.)
— — (2), Anwendung des Pasteurisierens gegen Nachgärungen der Weine auf den Flaschen. (Landw. Jahrb. XXIV. 1895. p. 403—433.)
Wermischeff (1), Recherches sur les microbes acétifiants. (Annales de l'Institut Pasteur. VII. 1893. p. 213.)
Winogradsky, S. (1), Ueber die Wirkung äußerer Einflüsse auf die Entwickelung von Mycoderma vini. (Botanisches Centralblatt. XX. 1884. p. 165.)
Wortmann, J. (1), Untersuchungen über das Auftreten und Verhalten von Dematium pullulans im gärenden Most. (Jahresbericht der kgl. Lehranstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau zu Geisenheim a. R. für 1891/92. p. 52.) Wiesbaden 1892.
— — (2), Das Umschlagen des Weines. (Jahresbericht der kgl. Lehranstalt etc. für 1891/92. p. 55. — Weinbau und Weinhandel. 1893.)
— — (3), Untersuchungen über reine Hefen. I. Teil. (Landw. Jahrb. XXI. 1892. p. 901.)
— — (4), Untersuchungen über reine Hefen. II. Teil. (Landw. Jahrb. XXIII. 1894. p. 535.)
— — (5), Anwendung und Wirkung reiner Hefen bei der Weinbereitung. Berlin 1895.

Referate.

Hansen, Emil Chr., Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie. Beiträge zur Lebensgeschichte der Mikroorganismen. I. Heft. 3. vermehrte und neubearbeitete Auflage. Mit 19 Abbildungen. München (R. Oldenbourg) 1895.

Daß dieses Buch in verhältnismäßig kurzer Zeit bereits in dritter Auflage erscheinen konnte, verdankt es nicht allein seinem für die Praxis so wichtigen Inhalte, sondern, ich möchte sagen in erster Linie, den daselbst im reichen Maße niedergelegten wissenschaftlichen Beobachtungen, welche stets Anregung und Grundlage für neue Studien bieten, und ist so der neue Untertitel, welchen der Verf. zuerst dem 2. Hefte hinzufügte: „Beiträge zur Lebensgeschichte der Mikroorganismen" vollständig gerechtfertigt.

Die vorliegende Neuauflage enthält alle Nachträge bis Anfang 1895, sowohl in praktischer als wissenschaftlicher Beziehung, auch hat sie an mehreren Stellen Umarbeitungen erfahren. Hansen wendet sich nicht bloß an die Zymotechniker im engeren Sinne, sondern auch an die Biologen, und ist dieses Buch besonders allen Jenen unent-

behrlich, welche sich in die speziellen Arbeiten dieses Forschers einführen wollen. Wichmann (Wien).

Wehmer, C., Zur Frage nach der Bedeutung von Eisenverbindungen für Pilze. (Beiträge zur Kenntnis einheimischer Pilze. Heft 2. p. 157—170.) Jena (G. Fischer) 1895.

Von Raulin war seinerzeit mitgeteilt, daß Aspergillus niger unter Umständen auf Zuckerlösung besser wachse, wenn derselben etwas Eisensalz zugefügt werde. Aus dieser an sich richtigen Beobachtung wurde dann ein irriger Schluß gezogen, indem der Autor aus derselben die Notwendigkeit des Eisens für das Wachstum folgerte. Um das zu erweisen, hätte derselbe natürlich die beobachtete Thatsache auch für andere Fälle zeigen müssen und vor allen Dingen zu beweisen gehabt, daß die Kontrollkulturen ohne Eisen nicht wachsen. Thatsächlich handelt es sich hier aber um eine nur unter ganz bestimmten Bedingungen eintretende Wachstumsbegünstigung für einen ganz bestimmten Pilz. Aehnliches gilt für die Folgerungen Molisch's, welchen die für den gleichen Pilz gewonnenen Resultate zu recht weitgehenden Schlüssen veranlaßten.

Daß eben jener Fall vorliegt, läßt sich durch methodisch angeordnete Versuche zeigen. Diese ergaben, daß nur bei einer bestimmten Zusammensetzung der Nährlösung und einer erheblich unter dem Wachstumsoptimum liegenden Temperatur der Zusatz von einigen Milligramm verschiedener Eisenverbindungen die Entwickelung von Aspergillus niger begünstigt. Der gleiche Effekt wird aber durch eine Aenderung der Nährlösungszusammensetzung erreicht und tritt überhaupt schon beim Wachstumsoptimum (34° C) auch ohne besonderen Eisenzusatz ein. Der Einfluß dieses auf den Aspergillus kann also nur ein indirekter sein und irgendwie weitergehende Schlüsse sind daraus nicht abzuleiten, zumal auch andere Pilze sich abweichend verhalten.

Ob nun weiterhin den in unseren chemischen Präparaten vorhandenen Eisenspuren eine Bedeutung für die Pilzvegetation zukommt, ist eine andere Frage. Einstweilen liegt zu einer solchen Annahme, die übrigens wohl sehr schwer zu beweisen, kein triftiger Grund vor. Sie ist zunächst auch mehr ein mancherlei Einwände unberücksichtigt lassender Analogieschluß, zu dem die rein chemische Betrachtungsweise verleitet. Wehmer (Hannover).

Wehmer, C., Die Nährfähigkeit von Natriumsalzen für Pilze. (Beiträge zur Kenntnis einheimischer Pilze. Heft 2. p. 105—140. m. 3 Tabellen.) Jena (G. Fischer) 1895.

Die heutige Annahme, daß Kaliumsalze für das Wachstum von Pilzen notwendig und speziell nicht durch Natriumsalze ersetzbar sind, beruht im wesentlichen auf einigen Versuchen Nägeli's. Derselbe folgerte aus dem Verlaufe von Kulturen, welche keinen besonderen Zusatz von Kaliumsalzen (an deren Stelle Salze des Natriums traten) erhalten hatten, die absolute Verschiedenwertigkeit dieser beiden. Versuche wie Folgerungen sind aber nicht einwurfsfrei. Bevor

jene Folgerung gezogen werden kann, ist überhaupt durch eine größere Zahl von Experimenten zuverlässig zu zeigen, daß ein Wachstum von Pilzen auf Nährlösungen, in denen die Kaliumverbindung durch eine solche des Natriums ersetzt ist, nicht statthat. Findet ein solches aber thatsächlich statt, so fällt damit auch der Nägelische Schluß.

Die Prüfung dieser Frage ergab nun zur Evidenz das Irrige desselben, denn Pilzkulturen wachsen auf derartigen Nährlösungen ganz passabel, sofern man ihnen nur Zeit zur Entwickelung läßt. Sie wachsen also langsamer und ermangeln gelegentlich auch reichlicher Konidienbildung. Wenn man diese Entwickelung nun auf Kosten von beigemengten Spuren einer Kaliumverbindung setzt, so ist das ein billiger Einwurf, denn mit dem gleichen Punkte (und in erheblich stärkerem Maße) hatten ja auch frühere Untersucher zu rechnen, und schließlich ist diese Annahme von der Notwendigkeit des Kaliums doch überhaupt erst eine Folgerung aus den früheren, jetzt nicht mehr stichhaltigen Versuchen, die somit auch mit ihnen fällt und nunmehr erst von neuem als richtig zu erweisen sein wird.

Es wurden im ganzen vier verschiedene, 90—134 Tage dauernde Kulturreihen mit Aspergillus niger und Penicillium glaucum in 31 Einzelversuchen (auf Traubenzucker, Rohrzucker, Olivenöl und Glycerin) angestellt, wobei als Mineralsalze Natriumnitrat, Natriumphosphat und Magnesiumsulphat als chemisch reine Salze verwendet wurden.

Charakteristisch für das Verhalten der Kulturen war allgemein die sehr langsame Entwickelung während der ersten Wochen; erst nach vielwöchentlicher Kulturdauer führte sie zu dichteren Decken, die auch nach Monaten noch im Weiterwachsen begriffen waren und keinerlei Absterbeerscheinungen darboten. Die endgiltig erzielten Ernten sowie der ökonomische Koëfficient (Pfeffer) waren zwar geringer als bei Gegenwart von Kalisalpeter, doch nicht wesentlich schlechter als bei Verwendung von Ammonnitrat und sogar günstiger als bei Benutzung von Calciumnitrat (neben Kaliumphosphat) als Stickstoffquelle. Allerdings ist hierbei die Zeitdauer noch in Anschlag zu bringen.

Nutzbare Natriumsalze (Nitrat und Phosphat) werden hiernach von beiden Pilzen in immerhin umfangreichem Maße verarbeitet; in einem der Versuche waren nach annähernder Berechnung 6 g Natriumnitrat zwecks Gewinnung des erforderlichen Eiweißstickstoffes zersetzt, während bei Fortlassung dieser Verbindung aus der Zusammensetzung der Nährlösung das Wachstum nahezu Null war. Offenbar ist aber die Verarbeitung aus irgend einem Grunde eine merklich trägere, wie ja auch die verschiedenen Kohlenstoffverbindungen (Zucker, Glycerin, organische Säuren etc.) bekanntlich ungleich ergiebig im Stoffwechsel zerlegt werden und meist sehr verschiedenwertig sind. Wir haben in dieser Beziehung noch eine allzu geringe Einsicht in das Getriebe des Organismus, um chemische Erklärungsweisen mit Nutzen anzuwenden, und dem vorsichtigen

Forscher geziemt das „Ignoramus“, unbekümmert darum, ob es für Dilettanten und spekulative Köpfe ein Stein des Anstoßes ist.

Natriumverbindungen (Nitrat) sind hiernach gegenüber denen des Kaliums nicht wertlos, sondern nur minderwertig. Eine notwendige Folge der schwereren Zersetzbarkeit im Stoffwechsel muß im allgemeinen aber auch ihre weniger ergiebige Aufnahme und somit dann auch ihr Zurücktreten in der Asche sein, eine Thatsache, die hiernach eine im ganzen befriedigende Deutung erhält; andere Nitrate sind aus irgend einem Grunde leichter verarbeitbar und somit auch wohl für Phanerogamen (neben Ammoniaksalzen) die bevorzugten Stickstoffträger.

Die Resultate der chemischen Untersuchung der veraschten Pilzdecken sowie der anderweitigen Materialien (Nährsalze etc.) folgen in einem zweiten Teile. Wehmer (Hannover).

Dyar, Harrison G., On certain Bacteria from the air of New York City. (Annals of New York Academy of Sciences. Vol. VIII. p. 322—380.) [Inaug.-Diss.] New York 1895.

Die Mikrokokken überwogen an Zahl bedeutend, wiesen aber nur wenige Arten auf. Die Bacillen zeigten sehr verschiedene Formen, Spirillen konnten nicht nachgewiesen werden.

Im ganzen zählt Verf. 126 Kleinlebewesen auf, deren einzelne Abteilungen stets mit einer Uebersicht zur Bestimmung versehen sind. Als neu werden folgende Arten aufgestellt und beschrieben:

Merismopedia flava varians, Micrococcus similis, M. cereus aureus?, M. cremoides aureus, M. cremoides albus, Merismopedia fragilis, M. mollis, Micrococcus dissimilis, M. tetragenus viridis, M. tetragenus pallidus, Merismopedia mesentericus corrugatus, Bacillus sarracenicolus, B. vacuolatus, B. subochraceus, B. domesticus, B. amabilis, B. javaniensis?, B. decolorans minor, B. secundus Fullesii, B. primus Fullesii, B. fuscus pallidior, B. ferrugineus, B. salmoneus, B. finitimus ruber, B. bruneoflavus, B. decolorans major, B. inutilis, B. alpha, B. beta, B. gamma, B. delta, B. Hudsoni, B. oxylacticus, B. epsilon, B. zeta, B. crystalloides, B. mesentericus fulvus granulatus, B. mesentericus fuscus consistens, B. helvolus granulatus, B. erythrogenes rugatus, B. eta, B. fuscus liquefaciens, B. theta, B. kappa, B. Kralii, B. larvicida, B. pyogenes foetidus liquefaciens?, B. Pruddeni, B. sordidus?

Bei jeder Art ist der Ort des Vorkommens angegeben, sind die morphologischen Eigenschaften geschildert und ist der Biologie Rechnung getragen. E. Roth (Halle a. S.).

Prinsen Geerligs, Ang-Khak, ein chinesischer Pilzfarbstoff zum Färben von Eßwaren. (Chemiker-Zeitung. 1895. No. 57.)

Als „Ang-Khak“ bezeichnen die Chinesen ein Produkt, das aus schön granatroten Reiskörnern besteht und sehr verbreitet zum

Färben von Eßwaren (Kuchen, Fische, Brod) und Getränken (Reiswein, Alkohol) Verwendung findet. Der leicht extrahierbare rote Farbstoff entsteht durch die Vegetation eines bislang noch nicht näher beschriebenen Pilzes (einer Telebolee nach Went), so daß zur Darstellung des Ang-Khak dieser Pilz einfach auf gekochtem Reis zur Entwickelung gebracht wird. Im einzelnen ist die technische Gewinnung jedoch Geheimnis und erst auf Umwegen gelang es Verf., einen näheren Einblick in dieselben zu bekommen.

Der aus dem Reis durch Alkohol oder Chloroform ausgezogene Farbstoff giebt eine schöne rote Lösung und nach Verjagen des Lösungsmittels einen amorphen Lack, wenig löslich in Wasser, leicht löslich dagegen in Aether, Eisessig, Aceton, Alkoholen etc. Bezüglich der chemischen Zusammensetzung konnte genaueres nicht ermittelt werden, doch fehlt Stickstoff und es handelt sich wahrscheinlich um ein Anthrachinonderivat. Bei 50° C schmilzt er, und höher erhitzt tritt Zersetzung (ohne Sublimation) ein. Die alkoholische Lösung zeigt zwei Absorptionsstreifen. Das Farbvermögen ist dem der Anilinfarben ähnlich, denen übrigens auch sein Verhalten gegenüber den üblichen Reagentien zur Ermittelung von künstlichen Weinfärbungen gleicht.

Zwecks Herstellung des Ang-Khak's im Großen wird gekochter Reis auf Tellern ausgebreitet und nach dem Erkalten mit gepulvertem Ang-Khak einer vorherigen Bereitung gemischt. Die Teller werden 6 Tage an einen dunklen kühlen Ort gestellt, wobei die Reismasse unter Rotfärbung sich mit einem weißen Pilzrasen bedeckt; nach dem Trocknen ist das gewöhnlich zuvor noch parfümierte Produkt mit (Senf- oder Knoblauchöl) exportfähig. Die Stärke des Reis wird durch den Pilz wenig verändert. Da diese Herstellung nun im Laboratorium mit Schwierigkeiten zu kämpfen hatte (Infektion des Reis durch andere Pilze), dürfte es bei der industriellen Darstellung ebenso sein, und Verf. folgert, daß das Geheimnis der Chinesen bei der Bereitung in der Verwendung von arseniger Säure besteht, von der thatsächlich Spuren im Handelsprodukt vorhanden sind; ebenso ist schon früher von Williams angegeben, daß man sich bei Pilzkulturen in China des Arsens bedient. Thatsächlich gelang es denn auch unter solchen Verhältnissen, reine Vegetationen des gegen Arsen wenig empfindlichen Pilzes zu ziehen. Dieser Zusatz hätte somit nicht gerade, wie auch Vordermann, der zuerst auf den Farbstoff aufmerksam machte, meinte, den Zweck, Insekten fern zu halten, sondern den der Sicherung von Reinkulturen. Wehmer (Hannover).

Schostakowitsch, W., Ueber die Bedingungen der Konidienbildung bei Rußtaupilzen. (Flora. Vol. LXXXI. 1895. p. 362. Mit Textfig.)

Unter Rußtaupilzen versteht man solche, welche die Oberfläche lebender Blätter mit einer (meist schwarzen) Kruste überziehen; sie sind nicht als Parasiten zu betrachten und können nur dann schädlich wirken, wenn sie durch ihr massenhaftes Auftreten die Assimilationsthätigkeit der Blätter hemmen.

Hauptsächlich sind zwei Formenkreise wichtig, der von Cladosporium und Fumago. Beide Pilze können in großer Vielgestaltigkeit auftreten: Konidienbildung, Hefebildung, Dematium etc. Den Bedingungen nachzuspüren, welche für die Ausbildung der einzelnen Formen maßgebend sind, ist der Zweck der Arbeit.

Verf. experimentierte zuerst mit Cladosporium herbarum und Hormodendron cladosporioides. Trotz der großen Aehnlichkeit beider Pilze, die eine Unterscheidung sehr schwer macht, ist es nicht möglich, sie in einander überzuführen. Die Kulturversuche wurden in der mannigfaltigsten Weise variiert, aber immer traten die Unterschiede in der Bildung der Konidienträger unzweifelhaft hervor. Ebensowenig gelang es durch Aenderung der Nährsubstrate einen der beiden Pilze in den andern überzuführen. Verf. kommt deshalb zu dem Schlusse, daß beide Pilze verschieden seien. Die Beobachtungen früherer Forscher, wonach beide demselben Formenkreis angehören, sind deshalb auf Täuschungen zurückzuführen, die wohl ihren Hauptgrund in unreinen Kulturen haben werden.

Ein dritter Pilz, der häufig auch in den Kreis der beiden soeben besprochenen Pilze eingereiht wurde, ist Dematium pullulans. Reine Kulturen von Cladosporium oder Hormodendron zeigten Dematium niemals, ebensowenig gelang es, von letzterem die Konidienträger von Cladosporium zu erzielen. Verf. schließt deshalb mit Recht, daß Dematium ein von den beiden andern unabhängiger Pilz ist. Interessant ist, daß bei einer konstanten Temperatur von 30—31° C die Hefebildung bei Dematium ganz unterbleibt und dafür Zellkörper angelegt werden, welche der Verf. Coniothecium-artige nennt. Diese Zellkörper können an den peripherischen Zellen wieder Hefekonidien bilden. Kultiviert man diese Hefekonidien in Reihenkulturen bei 30° C, so erhält man zuletzt eine Dematiumvarietät, welche auch bei 30° C nur Hefekonidien erzeugt.

Der vielgestaltige Fumagopilz kann nach Zopf entweder Hefen oder ähnliche Formen bilden oder Konidienbüschel, -bündel und Pyknidenformen erzeugen. Die Hefekonidien treten nach Zopf in 5-proz. Zuckerlösung und nährstoffarmen Lösungen auf. Verf. hat diese Kulturen wiederholt, aber nie Hefe erhalten, sondern immer nur Konidienträger. Er schließt daraus, daß Zopf's Kulturen vielleicht verunreinigt waren, daß also die Hefe überhaupt nicht zu Fumago gehört. Um die verschiedenen Arten der Gemmen-, Konidien- und Pyknidenbildung zu erzielen, wurden ausgedehnte Versuchsreihen gemacht, die in tabellarischer Form mitgeteilt werden. Es geht daraus hervor, daß die Ausbildung der einzelnen Fruchtformen von der Wahl der Nährstoffe abhängig ist. Das Maximum der Temperatur zur Auskeimung der Fumagokonidien liegt bei etwa 27° C.

Verf. giebt am Schlusse der interessanten Arbeit eine Zusammenfassung seiner Resultate, sie sei hier ebenfalls gegeben, da sie in prägnanter Weise die Wechselbeziehungen zwischen Substrat und Fruchtform erkennen läßt.

1) Cladosporium, Dematium und Hormodendron sind 3 vollständig selbständige, in keinem genetischen Zusammenhange mit einander stehende Pilze.

2) Dematium reagiert sehr deutlich auf die Einwirkungen der äußeren Bedingungen. Es bildet unter gewöhnlichen Verhältnissen meistens Hefezellen. In stark konzentrierten Lösungen von Rohr- und Traubenzucker tritt statt der Hefebildung nur ein steriles Mycel auf. Gleiche Wirkung hat die Verminderung des Sauerstoffdruckes. Bei 30° erzeugt Dematium nur Zellkörper.

3) Dematium läßt sich an höhere Temperaturen gewöhnen, indem man durch lange Zeit fortgesetzte Kulturen bei 30° schließlich eine Hefe bekommt, welche auch bei 30° Hefe bildet.

4) Fumago stellt einen sehr polymorphen Pilz dar. Er besitzt mannigfaltig gestaltete Fruktifikationsorgane, die eine kontinuierliche, von einfacher Konidienaussprossung bis zur Bildung von komplizierten Früchten aufsteigende Reihe darstellen.

5) Die Hefe und aus der Hefe hervorgehende Formen, welche Zopf beschrieben hat, gehören sehr wahrscheinlich nicht zu Fumago.

6) Pepton mit anorganischen Salzen, Gelatine, Asparagin, Glycerin, Milch- und Traubenzucker und Maltose rufen die Bildung der gestielten Konidienträger und Konidienbüschel hervor.

7) Auf Rohrzucker bei 8—13° bilden sich nur sitzende Früchte, bei 25° langgestielte und Konidienbüschel.

8) Cladosporium und Hormodendron bilden untergetaucht keine Konidien; Fumago erzeugt untergetaucht die Konidien nur dann, wenn die Nährflüssigkeit (Milch-, Rohr-, Trauben-) Zucker enthält. Lindau (Berlin).

Giesenhagen, K., Die Entwickelungsreihen der parasitischen Exoasceen. (Flora. Vol. LXXXI. p. 267. Mit Textfig.)

So viele verschiedene Bearbeiter, so viel Systeme der parasitischen Exoasceen giebt es auch! Je nach der subjektiven Auffassung der Autoren wurden die Zahl und die Umgrenzung der Gattungen verändert. Gerade die drei letzten Bearbeiter der so wichtigen Pilzgruppe weichen wesentlich von einander ab. Wenn wir die Gattung Magnusiella, die in ihrer Abgrenzung ziemlich fest steht, außer Spiel lassen, so sind die beiden anderen Gattungen Exoascus und Taphrina um so mehr mit einander vermengt worden. Die Gegensätze in der Begrenzung werden am besten durch Gegenüberstellung der Gattungsdefinitionen klar werden:

Nach Sadebeck:	Nach Schroeter:	Nach Brefeld:
Exoascus.		
Vegetatives Mycel in der Wirtspflanze perennierend; die subkutikulare askenbildende Schicht ohne sterile Zellen.	Asken bei der Reife 8-, seltener 4-sporig.	Ursprünglich in jedem Ascus 8 Sporen angelegt.
Taphrina.		
Mycel nicht perennierend; in d. subkutikularen Hyphenschicht auch sterile Zellen vorhanden.	Asken bei der Reife vielsporig.	Ursprünglich sind 4 Sporen in jedem Ascus angelegt.

Verf. beschäftigt sich eingehend mit der Kritik dieser Genusbegrenzung. Er hält die Unterschiede für ungenügend zur Definition der Gattungen und begründet dann eingehend seine Ansicht, daß Exoascus und Taphrina in eine einzige Gattung zusammenzuziehen seien.

Der Monograph der Exoasceen, Sadebeck, hatte in seiner letzten Arbeit eine Uebersicht über die einzelnen Arten gegeben, die auf morphologische Merkmale hin aufgebaut war. Verf. findet auch diese Einteilung nicht befriedigend. Er versucht nun, ausgehend von theoretischen Spekulationen über Verwandtschaftsverhältnisse, eine neue Gruppeneinteilung zu geben. Der Gedanke, der ihn leitet, ist kurz folgender. Nehmen wir einmal an, daß alle Arten, die auf denselben oder nahe verwandten Arten von Nährpflanzen schmarotzen, nahe verwandt sind, so muß sich diese Verwandtschaft durch die Uebereinstimmung in einem oder mehreren Merkmalen zu erkennen geben. Wenn aber dieses übereinstimmende Merkmal wirklich sich nachweisen läßt, so können wir umgekehrt auf die Verwandtschaft der betreffenden Arten schließen.

Derartige Uebereinstimmungen sucht Verf. nun in der Form der Schläuche, da sie allein bei der geringen Zahl sich bietender Charaktere etwas Greifbares ergeben. Es zeigt sich nun, daß die auf verwandten Nährpflanzen vorkommenden Arten den gleichen Formentypus im Schlauche besitzen. Es lassen sich 4 Typen unterscheiden: 1) der Filicinatypus besitzt schlanke Schläuche, die beidendig verschmälert und abgerundet sind; 2) der Betulaetypus hat plump cylindrische, am oberen Ende flach abgerundete, gestutzt oder schwach eingesenkte, am unteren gerade oder abgerundete Schläuche; 3) die Schläuche des Prunitypus sind keulenförmig bis schlank cylindrisch, oben flach abgerundet oder stumpf; 4) der Magnusiellatypus hat große, sackartige, ovale, fast kugelige Schläuche.

Dieses Zusammentreffen von Verwandtschaft der Nährpflanze und Formenbildung der Schläuche ist gewiß auffällig und Verf. findet eine Erklärung dafür nur in der Annahme, daß die Arten der parasitischen Exoasceen aus gemeinsamem Ursprung in allmählicher Fortbildung sich entwickelt haben zugleich mit den Arten der von ihnen bewohnten höheren Pflanzen.

Für die Werteinteilung der Arten nimmt also Verf. die Verwandtschaft der Nährpflanzen als Grundprinzip an. Innerhalb der Gattung Taphrina unterscheidet er dann 4 Stämme: den Filicinastamm auf Pteridophyten, den Betulaestamm auf Julifloren, den Prunistamm auf Rosifloren und den Aesculistamm auf Eucycliern.

Jeden dieser Stämme bespricht Verf. genauer nach seinem morphologischen Aufbau. So am genauesten den Betulaestamm. Die zahlreichen Arten dieser Gruppe lassen sich in zwei Reihen ordnen, von denen die eine keine, die andere dagegen eine Stielzelle am Ascus besitzt. Die Betrachtungen über die Funktion der Stielzelle, ferner über die Ableitungen der einzelnen Formen vom Urtypus u. a. m. können übergangen werden, da sie spekulativer Natur sind. Verf. kommt schließlich zu dem Resultate, nachdem er auch das Mycel

noch in den Kreis seiner Betrachtung gezogen hat, daß sich einzelne, auf bestimmte Nährpflanzen beschränkte Artgruppen unterscheiden lassen. Jede dieser Artgruppen hat im Laufe der phylogenetischen Entwickelung einen bestimmten Entwickelungsgang eingeschlagen. „Sehr auffällig muß nun die Thatsache erscheinen, daß trotzdem in den verschiedenen Artreihen dieselben Entwickelungsfortschritte sich nachweisen lassen.“ „Wir können daher den Schluß nicht von der Hand weisen, daß der Fortschritt von einer Phase morphologischer Ausbildung zur nächst höheren ebenso wie der Fortschritt von gestielten su stiellosen Asken in den verschiedenen Nachkommenreihen mehrmals und unabhängig von einander sich vollzogen hat.“

Damit ist das Prinzip, die Pilze nach ihren Nährpflanzen einzuteilen, auf die Spitze getrieben. Ob es in dieser Form Billigung finden wird, erscheint sehr fraglich. Aehnliche Einteilungen finden wir schon bei den Uredineen, wo man sogar soweit geht, die Arten lediglich nach den Nährpflanzen, nicht mehr nach morphologischen Merkmalen zu unterscheiden.

Interessant ist, was Verf. über die geographische Verbreitung der Exoasceen mitteilt. Unsere Kenntnisse sind aber hier noch so lückenhaft, daß erst spätere Forschungen hier mehr zu Tage fördern können.

Der zweite Teil der Arbeit beschäftigt sich mit der Aufzählung und Beschreibung der einzelnen Arten. Dieselben sind fast sämtlich abgebildet. Um des näheren die Einteilung zu zeigen, seien die Arten hier aufgezählt.

I. Gattung Taphrina.

Schläuche keulenförmig bis cylindrisch.

A. Der Filicina-Stamm.

1) T. Cornu cervi (Sadeb.) Ghg. auf Aspidium aristatum im malay. u. polynes. Gebiet.
2) T. Filicina Rostr. Aspidium spinulosum. Skandinav. Balkanhalbinsel.
3) T. Laurencia Ghg. Pteris quadrianrita. Ceylon.
4) T. fasciculata (Lgh. et Sadeb.) Ghg. Nephrodium spec. Ecuador.
5) T. lutescens Rostr. Aspid. Thelypteris. Dänemark.

B. Der Betulae-Stamm.

a) auf Ulmaceen.

6) T. Ulmi Johans. Ulmusarten. Europa u. Nordamerika.
7) T. Celtis Sadeb. Celtis australis. Alpengebiet.

b) auf Betulaceen.

α) auf Betula.

8) T. alpina Johans. Betula nana. Skandinavien.
9) T. nana Johans. Betula nana. Skandinavien.
10) T. Betulae Johans. Betulaarten. Mitteleuropa.
11) T. betulina Rostr. Betulaarten. Deutschland, Skandinavien.
12) T. carnea Johans. Betulaarten. Skandinavien, Schlesien, Alpen.

13) T. bacteriosperma Johans. Betula nana. Arktisch.
14) T. flava Farl. Betulaarten. Nordamerika.
15) T. turgida Sadeb. Betula verrucosa. Deutschland, Tyrol.

β) Auf Alnus.

16) T. epiphylla Sadeb. Alnus incana. Mitteleuropa, Italien.
17) T. Sadebeckii Johans. Alnusarten. Europa.
18) T. Robinsoniana Ghg. Alnus incana. Nordamerika.
19) T. Tosquinetii P. Magn. Alnusarten. Mitteleuropa.
20) T. Alni incanae P. Magn. Alnusarten. Mitteleuropa.

c) auf Cupuliferen.

21) T. Ostryae Massal. Ostrya carpinifolia. Italien.
22) T. virginica Seym. et Sadeb. Ostrya virginica. Nordam.
23) T. Carpini Rostr. Carpinus Betulus. Europa.
24) T. australis (Atkins.) Ghg. Carpinus americana. Nordamerika.
25) T. Kruchii (Vuillem.) Ghg. Quercus Ilex. Italien, Südfrankreich.
26) T. coerulescens Tul. Quercusarten. Europa, Nordamerika.

d) auf Salicaceen.

27) T. aurea Fr. Populusarten. Europa, Nordamerika.
28) T. Johansonii Sadeb. Populusarten. Mitteleuropa, Nordamerika.
29) T. rhizophora Johans. Populus alba. Skandin., Deutschl.

C. Der Pruni-Stamm.

a) auf Pomeen.

30) T. Crataegi Sadeb. Crataegusarten. Europa.
31) T. bullata Tul. Pirusarten. Europa.

b) auf Pruneen.

32) T. deformans Tul. Prunusarten. Europa, Nordamerika.
33) T. minor Sadeb. Prunus Chamaecerasus. Hamburg.
34) T. Insititiae Johans. Prunusarten. Mitteleuropa, Nordamerika.
35) T. decipiens (Atkins.) Ghg. Prunus americana. Nordamerika.
36) T. Cerasi Sadeb. Prunusarten. Mitteleuropa, Nordamerika.
37) T. Pruni Tul. Prunus domestica. Mitteleuropa, Nordamerika.
38) T. mirabilis (Atkins.) Ghg. Prunusarten. Nordamerika.
39) T. Farlowii Sadeb. Prunus serotina. Nordamerika.
40) T. confusa (Atkins.) Ghg. Prunus virginiana. Nordamerika.
41) T. Rostrupiana (Sadeb.) Ghg. Prunus spinosa. Mitteleuropa.
42) T. communis (Sadeb.) Ghg. Prunusarten. Nordamerika.
43) T. longipes (Atkins.) Ghg. Prunus americana. Nordam.
44) T. rhizipes (Atkins.) Ghg. Prunus triflora. Nordamerika.

c) auf Potentilleen.

45) T. Potentillae Johans. Potentillaarten. Europa, Nordamerika.

D. Der Aescula-Stamm.

a) auf Hippocastanaceen.

46) T. Aesculi (Ell. et Ev.) Ghg. Aesculus californica. Californien.

b) auf Anacardiaceen.

47) T. purpurascens Robins. Rhus copallina. Nordamerika.

c) auf Aceraceen.

48) T. acericola Massal. Acerarten. Italien.

49) T. polyspora Johans. Acer tataricum. Ost- und Nordeuropa.

II. Gattung Magnusiella.

Schläuche sackförmig, eirund oder fast kugelig.

50) M. Githaginis Sadeb. Agrostemma Githago. Dänemark.

51) M. Umbelliferarum Sadeb. Umbelliferen. Europa.

Lindau (Berlin).

Wehmer, C., Untersuchungen über die Fäulnis der Früchte. (Beiträge zur Kenntnis einheimischer Pilze. Heft 2. p. 1—84, mit einer farbigen und 2 schwarzen Tafeln.) Jena (G. Fischer) 1895.

Es liegen bisher nur zwei Arbeiten vor, welche sich näher speziell mit den Pilzen, durch welche die Obstfäule des täglichen Lebens veranlaßt wird, beschäftigen; beide sind schon älteren Datums und weichen auch in ihren Resultaten etwas von einander ab. Die erste Arbeit stammt von Davaine, welcher Penicillium glaucum und Mucor Mucedo als die verbreitetsten Fäulnispilze ermittelte, während der zweite Bearbeiter des Gegenstandes, Brefeld, als solche Mucor stolonifer und Botrytis cinerea angab; seltener kommt nach diesem Mucor racemosus und als meist secundär Penicillium glaucum hinzu. Da beide für ihre Befunde allgemeinere Giltigkeit in Anspruch nehmen, bedarf die Frage einer nochmaligen Bearbeitung, welche sich hier auf die Fäulniserscheinungen von Apfel, Birne, Mispel, Traube, Apfelsine, Citrone, Mandarine, Orange, Zwetsche, Kirsche, Wallnuß erstreckte.

Er ergab sich da, daß im wesentlichen mehrere Mucor- und Penicillium-Arten, neben Botrytis cinerea, in Frage kommen. Die Fäulnis der einheimischen Obstsorten wird vorzugsweise durch Penicillium glaucum und Mucor piriformis, daneben auch durch Mucor stolonifer, M. racemosus und Botrytis verursacht; die der fremden dagegen durch zwei bislang wohl mit P. glaucum verwechselte neue Penicillium-Arten, nämlich P. italicum und P. olivaceum. Der Mucor Mucedo Davaine's dürfte wohl mit dem erst kürzlich von A. Fischer

beschriebenen M. piriformis identisch sein. P. glaucum ist von allen der verbreitetste Fäulniserreger, tritt im übrigen auch durchweg primär auf. Monilia cinerea, die unter Umständen sehr gemein ist, fehlt auf dem Winterobst fast stets; ihre Wirkung ist übrigens auch eine ganz andere, also keine eigentliche „Fäulnis“, sondern eine Mumificierung der getöteten Früchte, so daß dieser Pilz gesondert abzuhandeln wäre.

Der Eintritt der Fäulnis jener unter Bräunung und Erweichen vorsichgehenden Gewebsveränderung, wie auch ihr Fortgang ist an eine Reihe allgemeiner Bedingungen geknüpft. Der Pilz muß zunächst eine natürliche oder künstliche Eingangspforte (Spaltöffnung, Wunden etc.) vorfinden, es muß hinreichende Feuchtigkeit und eine gewisse Temperatur gegeben sein, das Substrat muß eine zusagende Nahrung bieten und einen gewissen anatomischen Bau haben. Da die Erscheinung trotzdem nur durch ganz bestimmte Pilzformen hervorgerufen wird, so müssen diese überdies durch ein Besonderes ausgezeichnet sein, vermöge dessen sie erst eine so verderbliche Wirkung auf die Zellen des lebenden Gewebes der Frucht ausüben. Da diese für die Mehrzahl derselben jedoch nur für die reife Frucht besteht, so bleibt auch dieser Punkt noch zu erklären. Die Disposition der reifen Frucht für die Fäulnis hat man bisher vorzugsweise als eine durch das Alter der Zellen geschaffene erklärt; es wären aber neben dieser „Altersschwäche“ noch andere Momente zu erwägen, denn sowohl das anatomische Gefüge wie die chemische Zusammensetzung der reifen Frucht sind andere. Weiterhin bleibt noch zu erklären, warum gewisse Pilze ganz bestimmte Fruchtarten bevorzugen und unter Umständen sich ausschließlich auf diesen finden (P. italicum auf der Apfelsine und anderen Südfrüchten). Jedenfalls kommt den genannten Arten die Fähigkeit eines durch mancherlei Umstände stark eingeschränkten Parasitismus zu.

Das letzte Kapitel der hier kurz skizzierten Ausführungen beschreibt die aufgenannten und abgebildeten Pilzarten; Kapitel I enthält die ausführlichere Litteratur des Gegenstandes, während Kap. II das Experimentelle (Erörterung des Methodischen etc.) giebt und Kap. III an die zusammengefaßten Resultate theoretische Erörterungen knüpft (Bedingungen der Fäule, Ursache der Pathogenität, Prädisposition reifer Früchte, Beziehungen zwischen Pilz- und Frucht-Art). Tafel I bringt kolorierte Photographieen pilzfauler Früchte speziell der Penicillium-Fäule von Apfelsine, Citrone, Traube, Apfel und Birne, der Botrytis-Fäule (Edelfäule) der Traube und Mucor-Fäule der Birne, wie sie nach Sporeninfektion innerhalb der feuchten Kammer sich entwickeln, im übrigen aber auch unter gewöhnlichen Verhältnissen oft zur Beobachtung kommen. Tafel II und III geben Abbildungen der einzelnen Pilze. Wehmer (Hannover).

Fautrey, F., Une nouvelle maladie du Solanum tuberosum, Entorrhiza Solani. (Rev. mycol. 1896. p. 11. Mit Taf.)

Im Departement Côte-d'Or trat 1895 eine Kartoffelkrankheit auf, welche großen Schaden verursachte. Die befallenen Pflanzen welkten,

bekamen gelbes Laub, der Stengel wurde welk und verfiel bald. Knollen wurden nicht angesetzt, ebensowenig Blüten. Die Wurzeln waren vom Wurzelhals abwärts faulig. Statt des Plasmas enthielten die Zellen eine große Zahl von rundlichen Sporen. In Gelatine keimten dieselben mit kurzen Keimschläuchen aus. Trotzdem sich weiteres nicht feststellen ließ, stellt Verf. doch die neue Art Entorrhiza Solani auf. Ob der Pilz überhaupt in diese Gattung gehört, bleibt höchst zweifelhaft. Erst weitere Untersuchungen können darüber Gewißheit schaffen. Lindau (Berlin).

Stift, A., Bericht über Versuche zur Bekämpfung der Nematoden mittels Gaswasser. (Oesterr.-ungar. Zeitschr. f. Zuckerindustrie u. Landwirtschaft. XXIV. 1895. p. 988.)

Es war ursprünglich geplant, die Versuche im großen nach der Methode von Willot durchzuführen, welcher zur Bekämpfung der Rübennematoden die verdünnten ammoniakalischen Gaswasser der Leuchtgasfabriken verwendet und angeblich ausgezeichnete Resultate erzielt haben will. Da aber von Willot eine Beschreibung seines Verfahrens nicht zu erhalten war und außerdem die Beschaffung größerer Gaswassermengen auf erhebliche Schwierigkeiten stieß, so mußten die Versuche im Großen unterbleiben, und es wurden nur Versuche in Vegetationsgefäßen durchgeführt, bei welchen einzig und allein die Frage zur Entscheidung kam, ob das Gaswasser überhaupt einen Einfluß auf die Lebensthätigkeit der Nematoden besitzt oder nicht. Konnte ein solcher Einfluß konstatiert werden, so wäre es dann Sache weiterer Versuche gewesen, den Weg für die richtige Anwendung des Gaswassers zu finden. Zu den Versuchen dienten nematodenhaltige Erden, welche in kleine Vegetationsgefäße gebracht wurden. Als Fangpflanzen für die Nematoden wurden Rübsen gewählt, weil diese Pflanzen weit früher als die Zuckerrübe auf die Nematoden reagieren. Zur Verwendung gelangten zwei Gaswassersorten; Gaswasser I enthielt 1,01 Proz. Ammoniak und geringe Mengen Rhodan, während Gaswasser II bei einem Gehalte von 2,25 Proz. Ammoniak nur Spuren von Rhodan zeigte. Bei dem ersten Versuche wurde auch Ammoniakwasser mit einem Gehalte von 1 Proz. Ammoniak verwendet; da dasselbe aber auf die Vegetation der Pflanzen ungünstig einwirkte und auch seinen Zweck, die Nematoden zu vernichten, nicht erfüllte, so wurde mit diesem Agens weiter nicht mehr gearbeitet. Die Gaswasser gelangten unverdünnt und verdünnt (in Konzentrationen 1 : 1, 1 : 2 und 1 : 3) in Anwendung, indem sie mittels einer feinen Brause auf die Oberfläche des Bodens aufgestäubt wurden, wobei darauf geachtet wurde, daß die Verteilung eine gleichmäßige war. Die Imprägnierung des Bodens geschah entweder vor der Bestellung mit dem Rübsen oder zu einer Zeit, wo die Pflanzen ziemlich entwickelt und bereits einwandernde Larven zu konstatieren waren. Die verwendeten Mengen der Gaswasser schwankten je nach Anordnung des Versuches und würden die größten Mengen 176 hl Gaswasser pro Hektar entsprechen, also ein Flüssigkeitsquantum, welches das Verfahren zu einem praktisch undurchführbaren macht, abgesehen davon, daß dieses Quantum ohne jede

Wirkung auf die Nematoden bleibt. Die über $1^1/_2$ Jahre durchgeführten Versuche haben nun folgendes Resultat ergeben: Das Gaswasser in verdünnter sowie in unverdünnter Form, in landwirtschaftlich ausführbarer Menge in den Ackerboden gebracht, ist ohne jeden Einfluß auf die Lebensthätigkeit der Rübennematoden. Einen eminenten Einfluß besitzt dasselbe hingegen aber sowohl auf die Vegetationskraft des Bodens als auch auf das Wachstum der Pflanzen und hat, wie auch nicht anders zu erwarten war, besonders schädlich das rhodanhaltige unverdünnte Gaswasser gewirkt. Aber auch das rhodanfreie Gaswasser führt zu Resultaten, welche dessen Anwendung in der Praxis direkt verbieten. Das rhodanhaltige Gaswasser hat in ziemlich verdünntem (1 : 2 und 1 : 3) Zustande, wenn seit der Einwirkung auf den Boden bis zur Bestellung desselben $^1/_2$ Jahr verflossen war, wohl nicht auf die spätere Entwickelung der Pflanzen einen schädlichen Einfluß ausgeübt, hingegen aber seinem Zwecke, die Nematoden zu vernichten, in keiner Weise entsprochen. Es ist daher das Gaswasser zur Vernichtung der Rübennematoden vollständig unbrauchbar; dasselbe bringt nicht nur keinen Nutzen, sondern ist sogar imstande, auf dem betreffenden Felde unberechenbaren Schaden zu verursachen. Stift (Wien).

Stift, A., Eine Beobachtung über das Auftreten der Enchytraeiden auf Zuckerrüben. (Oesterr.-ungar. Zeitschr. f. Zuckerindustrie u. Landwirtschaft. XXIV. 1895. p. 999.)

In nematodenhaltige Erde wurde eine Rübe eingesetzt, welche bereits das zweite Jahr Samen getragen hatte, also bereits 3 Jahre alt war. Die Pflanze war noch vollkommen gesund und lebenskräftig und entwickelte baldigst neue Blattstiele. Auf einmal trat aber ein auffälliger Rückgang ein und nach 8 Tagen waren sämtliche Blätter, ohne daß irgend welcher Pilz oder tierischer Schädling auf denselben zu bemerken war, abgestorben. Die Rübe wurde nun aus der Erde gezogen und war geradezu bedeckt mit 5—10 mm langen weißen Würmern, die entweder in den unteren, bereits skeletierten Teilen sich befanden, aber auch am Kopfe der Rübe in zahlreicher Menge vorgefunden wurden. Die Würmer wurden nach der mikroskopischen Prüfung als Enchytraeiden erkannt, auf welche gefährlichen Rübenschädlinge zuerst Vauha hingewiesen hat. Die Enchytraeiden rufen eine Art Rübenmüdigkeit hervor, welche von der durch die Rübennematode — Heterodera Schachtii — verursachten wohl zu unterscheiden ist. Da die verwendete Erde von einem Rübenfelde stammte, welches seinerzeit einen geradezu minimalen Ertrag gegeben hat, so ist nicht zu zweifeln, daß daran neben den Rübennematoden auch die Enchytraeiden einen hervorragenden Anteil haben. Da diese Tiere Rübenschädiger von nicht zu unterschätzender Gefahr sind, so verdienen sie die vollste Aufmerksamkeit, umsomehr als leider noch keine ausreichenden Bekämpfungsmittel bekannt sind.

Stift (Wien).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Noack, Die Dampfsterilisation des Fleisches mit besonderer Berücksichtigung ihrer Ergebnisse in der Praxis. (Dtsche tierärztl. Wochenschr. 1895. No. 32.)

Immer mehr macht sich in der wissenschaftlichen Fleischbeschau die Ansicht geltend, daß es zu ihren vornehmsten Aufgaben gehört, solches Fleisch, dem im rohen Zustande gesundheitsschädliche Eigenschaften anhaften oder bei dem wenigstens ein begründeter Verdacht hierfür vorliegt, nicht einfach zu vernichten, sondern durch geeignete Verfahren für den menschlichen Genuß zugänglich zu machen. Es sind hierfür verschiedene Apparate konstruiert worden, bei denen es möglich ist, durch Dampfüberdruck auch im Innern größerer Fleischstücke die Temperatur auf 100° C zu bringen und dadurch alle pflanzlichen und tierischen Parasiten zu töten. Verf. unterzieht sich der Aufgabe, in der vorliegenden Abhandlung einen Ueberblick über den wirtschaftlichen Gewinn und Verlust der im ersten Halbjahre 1895 bei der städtischen Fleischbeschau in Dresden erfolgten Dampfkochungen zu geben. Im ganzen wurde das Fleisch von 97 Rindern, 191 Schweinen, 21 Kälbern und 30 Schafen sterilisiert, d. h. einer Temperatur von 100° C ausgesetzt. 19 Rinder und 25 Schweine wurden dagegen nur dem Kochverfahren (Erhitzung auf mindestens 75° C im Fleischinnern) unterworfen. Hiernach gestalten sich die Ergebnisse etwas verschieden. Es ergiebt sich aus den tabellarischen Zusammenstellungen N.'s, daß bei der Sterilisierung Rindfleisch den höchsten Gewichtsverlust aufweist (44,9 Proz.), während bei Schweinefleisch nur 34,5 Proz. verloren gingen. Nahezu gleich hohen Verlust wie Rindfleisch erlitten Hammel- und Kalbfleisch (43,4 bzw. 44,5 Proz.). Bei einer Erhitzung auf nur 75° C ist der Verlust bei Rindfleisch ein geringerer (39,2 Proz), bei Schweinefleisch dagegen fast ebenso hoch wie bei einer Erhitzung bis auf 100° C (34,4 Proz.). Die aufgeführten Ausbeute- und Verlustwerte entsprechen nun aber nicht dem gehabten pekuniären Ertrage oder Verluste, denn der Verkaufswert des gekochten Fleisches ist weit niedriger als der des rohen. Wenn z. B. 1 kg rohes Rindfleisch 86 Pf. kostet, so wird 1 kg gekochtes nur mit 64 Pf. bezahlt. Aus der angeführten Tabelle geht hervor, daß z. B. ein Rind von 244,8 kg Fleischgewicht (ausgebeint) bei einem Gewichtsverluste von 44,9 Proz. einen Erlös von ca. 84 M. erzielt (gegen 211 M. im rohen Zustande). Dieses kommt einem Verluste von 60 Proz. gleich. Hierbei sind aber von dem erlösten Geldbetrage noch nicht die Kosten des Verfahrens abgerechnet, die in Dresden ca. 28 M. für einen Ochsen und etwa 20 M. für eine Kuh bzw. Bullen betragen. Immerhin sind es doch bedeutende Werte, die dem Nationalvermögen erhalten bleiben und die sich vielleicht durch andere Methoden der Unschädlichmachung, durch die der Fleischwert weniger leidet, noch vergrößern ließen.

Deupser (Deutsch-Lissa).

Corrigendum.

In No. 5. p. 148. Zeile 17 von oben ist als Autorname nicht Lichtheim, sondern Siebenmann (wie aus dem Citat der Arbeit auch hervorgeht) zu setzen.

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

DR. WILHELM WINDISCH.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Abba, F., Manuale di microscopia e batteriologia applicate al l'higiene. gr. 8°. Turin (C. Clausen) 1896. 8 £.

Flügge, C., Die Mikroorganismen mit besonderer Berücksichtigung der Aetiologie der Infektionskrankheiten. 3. Aufl. Leipzig (F. C. W. Vogel) 1896.

Hüppe, Ferdinand, Naturwissenschaftliche Einführung in die Bakteriologie. Wiesbaden (C. W. Kreidel) 1896.

Petit, R. H., Studies in artificial cultures of entomogenous fungi. (New York Cornell Sta. Bull. 97. 1896. p. 339—378. With 11 pls.)

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Bütschli, O., Weitere Ausführungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Im Anschluß an meine Abhandlung aus dem Jahre 1890. 8°. Leipzig (Wilhelm Engelmann) 1896. 6 M.

Giard, A., Sur un pseudo-protozoaire Schizogenes parasiticus Moniez. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1895. No. 35. p. 792—794.)

Ray, J., Mucor et trichoderma. (Compt. rendus. T. CXXII. 1896. No. 1. p. 44—46.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Hallier, E., Die Hefe der Alkoholgärung, insbesondere der Biergärung. gr. 8°. Weimar (Carl Steinert) 1896. 2 M.

Hansen, E. Ch., Practical Studies in fermentation. Translated by A. K. Miller and revised by the author. London 125 Strand (E. & F. Spon) 1896.

Maafsen, Albert, Beiträge zur Ernährungsphysiologie der Spaltpilze. Die organischen Säuren als Nährstoffe und ihre Zersetzbarkeit durch die Bakterien. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundh.-A. Jahrg. XII. 1896. p. 390—410.)

Molkerei.

Conn, H. W., Dairy bacteriology. (U. S. Dept. Agr., Office of Experiment Stations. Bul. 25. 1896. p. 40.)

Eichler, Etwas vom Pasteurisieren und Ansäuern der Sahne mit Reinkulturen. (Der Landwirt. Jahrg. XXXII. 1896. No. 26. p. 152.)

Weigmann, H., Ueber den gegenwärtigen Stand der bakteriologischen Forschung auf milchwirtschaftlichem Gebiete. Vortrag, gehalten auf der Generalversammlung des deutschen milchwirtschaftlichen Vereins am 18. Februar 1896 zu Berlin. (Milchztg. Jahrg. XXV. 1896. No. 10 u. 11.)

Prefshefefabrikation.

Laboschin, Hohe Hefenausbeuten. (Alkohol. Jahrg. VI. 1896. No. 13. p. 193.)

Schulz, Ernst, Fluoraluminium = Maischhefe. (Alkohol. Jahrg. VI. 1896. No. 10. p. 145.)

Stenglein, M., Blaue Hefe. (Alkohol. Jahrg. VI. 1896. No. 12. p. 177.)

— —, Blaue Hefe. (Loc. cit. No. 13. p. 194.)

Spiritusfabrikation.

Bauer, E., Bierhefe als Maischmaterial. (Alkohol. Jahrg. VI. 1896. No. 11. p. 161.)

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Hartenstein, N., Zur Behandlung finniger Tiere. (Zeitschr. f. Fleisch u. Milchhygiene. 1896. Heft 4. p. 61—63.)

Zacharbekow, Die Bakteriologie der St. Petersburger Milch. (Wratsch. 1895. No. 13.) [Russisch.]

Luft, Wasser, Boden.

Holz, M., Das Wasser der Mosel und der Seille bei Metz. (Archiv für Hygiene. Jahrg. XXV. 1896. p. 309.)

Düngung.

Wagner, Paul, Zur Konservierung des Stalldüngers. Vortrag, gehalten in der Generalversammlung des landwirtschaftl. Hauptvereins Hannover am 24. Januar 1896 in Hannover. (Durch: Der Landbote. Jahrg. XVII. 1896. No. 27. p. 244.)

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Arthur, J. C., Potato Scab and its prevention. (Indiana Sta. Bul. 56. 1896. p. 69—80.)

Boyer, G., A grapevine fungus, Helicobasidium purpureum. (Prog. Agr. Vit. Bd. XII. 1895. No. 40. p. 361—365. 1 pl.)

Cockerell, T. D. A., A new Coccid. (Roy. Bot. Gardens Trinidad, Bul. Misc. Inform. Jahrg. II. 1895. No. 4. p. 85—86.)

Fawcett, N., Report on disease in sugar cane. (Bul. Bot. Dept. Jamaica, n. ser. Bd. II [1895]. No. 8. p. 165—167.)

Frank, B., Die Resultate der vorjährigen Forschungen über die Herz- und Trockenfäule der Rüben. (Der Landwirt. Jahrg. XXXII. 1896. No. 16. p. 151.)

Harshberger, J. W., The need of competent plant doctors. (Education. Bd. XVI. 1895. No. 3. p. 140—144.)

Injurious insects and fungi. (Journ. [British.] Bot. Agr. Jahrg. II. 1895. No. 2. p. 162—182.)

Kirk, T. W., Some potato diseases and how to prevent them. (New Zealand Dept. Agr., Leaflets for Farmers. 1896. No. 25. p. 6. With 4 figs.)

Norton, J. B. S., Ustilago reiliano on corn. (Bot. Gaz. Bd. XX. 1895. No. 10. p. 463.)

Pierce, N. B., Grape diseases on the Pacific Coast. (U. S. Dept. of Agricult., Farmers' Bul. 30. 1896. p. 14. With 3 figs.)

Yasuda, A., Injury of leaves caused by a species of humblebee. (Bot. Mag. Tokyo. Bd. IX. [1895.] p. 294—305.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Abelous, L., An attempted curative for white rot. (Progr. Agr. Vit. Bd. XII. 1895. No. 40. p. 358—359.)

Br. D, Das Bordelaisieren von Obstbäumen. (Illustr. landwirtschaftl. Ztg. Jahrg. XVI. 1896. No. 24. p. 168.)

Federolph, A., Der Einfluß des chlorsauren Lithions auf Bakterien. (Wratsch. 1895. No. 39.) [Russisch.]

Guillon, J. M., Experiments in the treatment of chlorosis. (Progr. Agr. Vit. Bd. XII. 1895. No. 42. p. 408—417.)

Kirk, T. W., Remedies and preventives for insects and fungus pests. (New Zealand Dept. Agr., Leaflets for Gardeners and Fruit Growers. 1896. No. 10. p. 8.)

Münzberger, Th., Die Sterilisation im pharmazeutischen Laboratorium. (Zeitschr. des Oesterr. Apotheker-Vereins. Bd. XXXIV. 1896. p. 230.)

v. Prittwitz, Verhütung des Wurzelbrandes bei Zuckerrüben. (Der Landwirt. Jahrg. XXXII. 1896. No. 21. p. 121.)

Rassignier, The use of sulphate of iron and its effects. (Progr. Agr. Vit. Bd. XII. 1895. No. 43. p. 431—432.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

1896. Centralblatt Bd. II. No. 6/7.
für Bakteriologie und Parasitenkunde.
II. Abteilung.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.
Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.
In Verbindung mit
Prof. Dr. Adametz in Krakau, Prof. Dr. M. W. Beyerinck in Delft, Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen, Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Bonn, Privatdocent Dr. Wehmer in Hannover, Dr. Weigmann in Kiel, Dr. Wilfarth in Bernburg und Dr. Winogradsky in St. Petersburg
herausgegeben von
Dr. O. Uhlworm in Cassel.
Verlag von Gustav Fischer in Jena.
II. Band. Jena, den 9. Mai 1896. No. 8.
Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Original-Mittheilungen.

Ein neuer Buttersäuregärungserreger (Bacillus saccharobutyricus) und dessen Beziehungen zur Reifung und Lochung des Quargelkäses.

[Aus dem Laboratorium für Molkereiwesen der k. k. Jagellonischen Universität in Krakau.]

Von

Dr. Valerian v. Klecki.

Mit 1 Figur.

(Fortsetzung.)

Um über die Natur der gelösten Eiweißsubstanzen nähere Auskunft zu gewinnen, verfuhr ich folgendermaßen: Eine besondere Menge (ca. 500 g) vergorener Milch wurde mit Oxalsäure versetzt und der aus Kaseïn und oxalsaurem Kalk bestehende Niederschlag abfiltriert. Das vollkommen klare Filtrat wurde genau neutralisiert, mit Essigsäure angesäuert und gekocht; dabei blieb die Flüssigkeit vollkommen

klar. Sie gab dagegen einen Niederschlag mit Gerbsäure, Phosphorwolframsäure, durch Sättigung mit Ammoniumsulfat bei Siedetemperatur, eine prachtvolle Rotfärbung mit Millon's Reagens und Biuretreaktion (in der oben angegebenen Weise ausgeführt). In der vergorenen und filtrierten Milch müssen wir demnach die Anwesenheit von eiweißartigen Stoffen annehmen; als durch Säure gelöstes Kaseïn oder als Albumin können wir jedoch dieselben nicht betrachten. Vielmehr müssen wir dieselben zu den Albumosen oder ähnlichen Eiweißkörpern rechnen. Die Abtrennung der Peptone durch Sättigung mit schwefelsaurem Ammoniak bei Siedetemperatur wurde nicht ausgeführt, weshalb ich trotz der Biuretreaktion und Gerbsäurefällung der kaseïn- und albuminfreien Lösung, die Anwesenheit von Pepton (im Sinne Kühne's) in der durch den Bacillus saccharobutyricus vergorenen Milch nicht annehmen zu dürfen glaube.

Die nach dem Abfiltrieren des Kaseïnniederschlages hinterbleibende klare Lösung wurde nach Neutralisierung einer Destillation unterworfen. Mit Hilfe der oben beschriebenen Methoden prüfte ich das Destillat auf Ammoniak, Phenol, Indol und Skatol. Es war keiner von diesen Stoffen in der vergorenen Milch vorhanden; dagegen roch die aus saurer Lösung destillierende Flüssigkeit stark nach flüchtigen Fettsäuren. Dadurch wurde der Beweis geliefert, daß die durch den Bacillus saccharobutyricus veranlaßte Gärung nicht im mindesten den Charakter einer fauligen Gärung aufweist, sondern daß hier eine echte Buttersäuregärung vorliegt. Die flüchtigen Fettsäuren wurden mit Wasserdampf abdestilliert. Ich erhielt ca. 520 ccm Destillat, welches die Fettsäuren enthielt. Von diesem Destillat wurden zwei Proben à 100 ccm abgemessen, mit Barythydrat neutralisiert und der Barytüberschuß durch Einleiten von Kohlensäure und Filtration entfernt. Auf diese Weise erhielt ich zwei neutrale Lösungen von fettsaurem Baryum. Die eine Lösung wurde bis zur Trockne eingedampft, die ausgeschiedenen Barytsalze mit Alkohol gereinigt, mehrmals umkrystallisiert und die konzentrierte wässerige Lösung der gereinigten Barytsalze mit salpetersaurem Silber gefällt. Der hierbei ausgeschiedene Niederschlag wurde auf ein vorher getrocknetes und gewogenes Filter gebracht, ausgewaschen, getrocknet und gewogen. Das Gewicht der Silbersalze betrug 0,2389. Darin wurde die Menge des Silbers durch Glühen bestimmt und gleich 0,1305 Ag gefunden. Der Silbergehalt der fettsauren Silbersalze betrug demnach 54,62 Proz. Buttersaures Silber enthält 55,38 Proz. Ag, valeriansaures Silber enthält 51,67 Proz. Die von dem Bacillus saccharobutyricus gebildete Fettsäure ist somit hauptsächlich Buttersäure; daneben wird möglicherweise auch etwas Valeriansäure oder eine andere höhere Fettsäure gebildet. Dieses Ergebnis wurde durch die auf eine andere Weise vorgenommene Bestimmung der Natur der Fettsäuren in der zweiten Probe bestätigt. In letzterer wurden die Fettsäuren, nach mehrfacher Reinigung durch Umkrystallisieren, in Form von kohlensaurem Baryum bestimmt. Aus 1,1035 g fettsauren Baryums wurde 0,6981 g kohlensauren Baryums, oder 63,26 Proz. erhalten. Buttersaurem Baryum würde 63,34 Proz.

kohlensauren Baryums entsprechen; valeriansaurem Baryum würde 58,11 Proz. Baryumkarbonat entsprechen.

Der nach dem Abdestillieren der flüchtigen Fettsäuren hinterbleibende Kolbenrückstand wurde mit Wasser bis genau zu einem Liter verdünnt.

Davon wurden entnommen:

1) 2 Proben à 30 ccm = 60 ccm zur Bestimmung des Stickstoffs der löslichen Stickstoffverbindungen;
2) 2 Proben à 40 ccm = 80 ccm zur Bestimmung des Stickstoffs der durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoffverbindungen und des Stickstoffs der Eiweißzersetzungsprodukte;
3) 2 Proben à 30 ccm = 60 ccm zur Bestimmung des Stickstoffs der durch Gerbsäure fällbaren Stickstoffverbindungen;
4) 2 Proben à 10 ccm = 20 ccm zur Bestimmung des Milchzuckers;
5) 1 Probe à 20 ccm = 20 ccm zur Prüfung mittels der Biuretreaktion.

240 ccm

Die übrig bleibenden 760 ccm wurden zur qualitativen Prüfung auf Milchsäure, aromatische Säuren, Leucin und Tyrosin benutzt.

Zunächst bestimmte ich in 30 ccm der Flüssigkeit den Gesamtstickstoff. Eine andere Portion (40 ccm) versetzte ich, nach Ansäuern mit Schwefelsäure, mit Phosphorwolframsäure. Der hierbei entstandene Niederschlag wurde mit Phosphorwolframsäure- und schwefelsäurehaltigem Wasser gewaschen, samt Filter verbrannt und der in demselben enthaltene Stickstoff nach Kjeldahl bestimmt. Im Filtrate wurde der Stickstoff gleichfalls bestimmt. In ähnlicher Weise wurde in einer dritten Portion (30 ccm) der im Gerbsäureniederschlage und in dem Filtrate davon enthaltene Stickstoff bestimmt. Da 1 l des verdünnten Kolbenrückstandes der ursprünglich vorhandenen Menge 2036,56 g Milch entspricht, so läßt sich leicht die aus einer beliebigen Menge Milch gebildete Quantität der betreffenden Stoffe herausrechnen, wenn die Menge der letzteren in einer bestimmten Anzahl Kubikcentimeter des Kolbenrückstandes bestimmt worden ist. Auf diese Weise wurde gefunden:

				I.	II.
I.	Gesamtstickstoff	in 30 ccm der Lösung	entspr. 61,10 g Milch	0,05068	0,0512
II.	Stickstoff der Phosphorwolframsäurefällung . .	„ 40 „ „ „	„ 81,47 „ „	0,0358	0,0347
III.	Stickstoff im Filtrate d. Phosphorwolframsäurefällung .	„ 40 „ „ „	„ 81,47 „ „	0,0314	—
IV.	Stickstoff d. Gerbsäurefällung	„ 30 „ „ „	„ 61,10 „ „	0,0168	0,01596
V.	Stickstoff des Filtrates der Gerbsäurefällung . . .	„ 30 „ „ „	„ 61,10 „ „	0,03508	0,03444

Aus den Zahlen obiger Tabelle läßt sich leicht berechnen, daß aus 100 g Milch gebildet worden ist:

		I.	II	im Mittel
I.	Löslicher Gesamtstickstoff	0,083 g	0,082 g	0,0825 Proz.
II.	Stickstoff der Phosphorwolframsäurefällung . . .	0,044 „	0,042 „	0,0430 „
III	Stickstoff im Filtrate der Phosphorwolframsäurefällung	0,0386 „	—	0,0386 „
IV.	Stickstoff der Gerbsäurefällung	0,027 „	0,026 „	0,0265 „
V.	Stickstoff des Filtrates der Gerbsäurefällung . . .	0,057 „	0,056 „	0,0567 „

Die Zahlen stimmen vollkommen gut mit einander überein. Aus den Zahlen der Reihe II und III, sowie IV und V läßt sich die Menge des löslichen Gesamtstickstoffes durch Addition berechnen und auf diese Weise finden wir hierfür die Werte: 0,082 und 0,083 Proz., während durch direkte Stickstoffbestimmung (Reihe I) gefunden wurde 0,083 und 0,082 Proz.

Wollten wir aus dem „löslichen Stickstoff" die Menge des „gelösten Eiweißes" durch Multiplikation mit 6,25 berechnen, so würden wir hierfür die Zahl 0,0825 $\times$ 6,25 = 0,52 Proz. erhalten. Früher haben wir diese Zahl aus der Menge des ausgefällten Kaseïns annähernd bestimmt und gleich 0,36 Proz. gefunden. Die Differenz beider Zahlen kann uns nicht befremden, indem ja die erstere Zahl durch direkte Stickstoffbestimmung, die letztere dagegen indirekt und annähernd nach einer langwierigen, mit Fehlern behafteten Methode, die nur den Zweck einer allgemeinen Orientierung hatte, gefunden worden ist. Insofern sind aber beide hier gefundene Zahlen interessant und insofern stimmen sie auch miteinander überein, als sie beide ganz deutlich zeigen, daß bei der durch den Bacillus saccharobutyricus veranlaßten Buttersäuregärung stattfindende Kaseïnzersetzung äußerst geringfügig ist. In normaler Kuhmilch findet sich ja gleichfalls etwas gelöstes Eiweiß. Nach König enthält die Milch im Mittel 0,53 Proz. Albumin. In vorliegendem Falle können wir (s. oben) die gefundene Menge 0,52 Proz. nicht als unverändertes Albumin betrachten. Außer dem Albumin enthält aber die normale Milch auch geringe Mengen von gelösten Eiweißkörpern (Lactoproteïn von Millon und Comaille, Albuminose von Bouchardat und Quévenne, Galactine, Gelactine etc.). Nach Schmidt-Mülheim wird das Lactoproteïn aus der Milch nach Abscheidung des Kaseïns und Albumins mit Phosphorwolframsäure gefällt. Jedenfalls muß man aber annehmen, daß die Menge dieser in normaler Milch gelöster eiweißartiger Stoffe geringer ist als die oben gefundene. In aufgekochter und durch Porzellan filtrierter Milch fand Duclaux[1]) 0,3 Proz. „Kaseone" (gelöstes Eiweiß). Dagegen fand Zahn in gekochter und durch poröse Platten filtrierter Milch nur Spuren einer albuminartigen Substanz. Die Menge des von mir in der vorgorenen Milch gefundenen Stickstoffes ist demnach groß genug, um daraus auf eine Eiweißzersetzung zu schließen (womit auch die Menge des im Filtrate von der Phosphorwolframsäure- und Gerbsäurefällung gefundenen Stickstoffes übereinstimmt); andererseits aber ergiebt sich aus diesen Zahlen, daß diese durch den Bacillus saccharobutyricus veranlaßte Eiweißzersetzung nur sehr unbe-

1) Le lait. p. 135.

deutend ist. Damit stimmt auch überein, daß in der vergorenen Milch keine Fäulnisprodukte, keine Spur Ammoniak, kein Leucin und Tyrosin gefunden worden sind.

Eine geringe Eiweißzersetzung scheint auch nach dem biologischen Verhalten des Bacillus saccharobutyricus in anderen flüssigen Nährmedien (worüber weiter unten berichtet wird) in Vergleich mit dem Verhalten desselben in der Milch zu urteilen, entschieden stattgefunden zu haben. Was den Charakter der in der vergorenen Milch enthaltenen löslichen stickstoffhaltigen Stoffe anlangt, so mag hier noch darauf aufmerksam gemacht werden, dass sich der durch Phosphorwolframsäure hervorgebrachte Niederschlag in heißem, verdünntem Weingeist sehr leicht löste. Es ist dies insofern interessant, als Benecke und Schulze in einigen Käsesorten (Vacherin, Bellelay, Greyerzer etc.) in Weingeist lösliche, peptonartige Körper gefunden haben.

Der Milchzuckergehalt der vergorenen Milch wurde auf folgende Weise bestimmt:

10 ccm der durch Verdünnung des Destillationsrückstandes zu 1 l erhaltenen Flüssigkeit (entsprechend 20,36 g Milch) wurden mit Hilfe von Phosphorwolframsäure von gelösten eiweißartigen Stoffen befreit; nachdem der bei dieser Fällung entstandene Niederschlag ausgewaschen war, wurde im Filtrat (samt Waschwasser) der Ueberschuß an Phosphorwolframsäure mit Barythydrat zersetzt. Nach Abfiltrieren und Auswaschen des hierbei entstandenen Niederschlages wurde der Ueberschuss an Baryum zunächst mit Kohlensäure und dann mit Schwefelsäure entfernt. Nachdem die Säure mit Soda neutralisiert worden war, wurde die Flüssigkeit auf 500 ccm gebracht und in je 250 ccm der Milchzuckergehalt gewichtsanalytisch (aus der Menge des aus Fehling'scher Lösung reduzierten Kupfers) bestimmt. Es wurde auf diese Weise in 10 ccm des Destillationsrückstandes gefunden:

	I	II	
	0,1429 g	0,1389 g	Milchzucker
oder, auf 100 g Milch umgerechnet:			
	0,70 Proz.	0,68 Proz.	

Die Menge des in der Milch ursprünglich enthaltenen Milchzuckers betrug 4,53 Proz.

Aus obigen Zahlen ergiebt sich demnach, daß die durch den Bacillus saccharobutyricus eingeleitete Buttersäuregärung vornehmlich auf Kosten des Milchzuckers stattgefunden hat.

Der Rest des Destillationsrückstandes (760 ccm) wurde auf Milchsäure, aromatische Säuren, Leucin und Tyrosin geprüft. Diese Prüfung fiel, ebenso wie die früher mit einer kleineren Menge vergorener Milch vorgenommene, negativ aus. Ich konnte keine Krystalle von Leucin und Tyrosin erhalten. Aus der wässerigen Lösung des nach dem Abdestillieren des Aethers hinterbleibenden Rückstandes des Aetherauszuges schieden sich allmählich geringe Mengen eines bräunlichen Niederschlages aus. Die filtrierte gelbe Lösung, die

durch einen sehr angenehmen, an Honig erinnernden Geruch ausgezeichnet war, wurde eingeengt. Millon's Reagens erzeugte darin einen fleischfarbigen Niederschlag.

Durch den Bacillus saccharobutyricus werden demnach in der Milch auf Kosten des Milchzuckers gebildet: Ameisensäure, Buttersäure und möglicherweise auch Valeriansäure; eine Eiweißzersetzung findet dabei nur in sehr geringem Maße statt. Fäulnisprodukte, wie Ammoniak und namentlich Phenol, Indol, Skatol werden nicht gebildet. Milchsäure entsteht gleichfalls nicht. Aethylalkohol wird wahrscheinlich gebildet, aber jedenfalls nur in Spuren.

II. Verhalten des Bacillus saccharobutyricus in Bouillon und in künstlichen Nährlösungen.

Noch bevor ich die Untersuchung der in der Milch durch den Bacillus saccharobutyricus eingeleiteten Umsetzungen vorgenommen habe, hatte ich schon das Verhalten dieses Mikroben in anderen einfacheren flüssigen Nährmedien studiert. Dieses Studium ergab nun einige interessante, die Biologie des Bacillus saccharobutyricus betreffende Thatsachen, welche in das Verhalten desselben in der Milch einen schärferen Einblick zu machen gestatten. Da, wie ich bereits schon mehrmals hervorgehoben habe und wie dies die Litteratur über diesen Gegenstand beweist, bei der Buttersäuregärung, und namentlich bei der im Käse stattfindenden Buttersäuregärung, in der Mehrzahl der Fälle an eine Vergärung der Milchsäure (milchsauren Kalkes) und nicht an direkte Vergärung des Milchzuckers gedacht wurde, und mir die Vergärung des milchsauren Kalkes mit Hilfe des Quargelkäses (mit Roh- und Reinkulturen aus demselben) zu erzielen niemals gelingen wollte, so habe ich in den Bereich meiner Untersuchungen auch die Einwirkung des Bacillus saccharobutyricus auf den milchsauren Kalk aufgenommen. Es war zunächst meine Absicht, durch eine vergleichende Untersuchung des Verhaltens des Bacillus saccharobutyricus in verschiedenen flüssigen Nährmedien die Frage zu beantworten, welche Stoffe es sind, die einer Vergärung durch den Bacillus saccharobutyricus unterliegen. Nachdem das Studium der vom Bacillus saccharobutyricus in der Milch eingeleiteten chemischen Umsetzungen das Ergebnis geliefert hatte, daß es sich in diesem Falle um eine Vergärung des Milchzuckers handelt, wollte ich den Beweis liefern, daß der Milchzucker direkt, d. h. ohne vorherige Umwandlung zu Milchsäure, vergoren wird.

Ich habe nun folgende Nährflüssigkeiten hergestellt:

I. Bouillon mit Zusatz von 1 Proz. Pepton, 0,5 Proz. Kochsalz und 10 Proz. Milchzucker.

II. Bouillon mit Zusatz von 1 Proz. Pepton, 0,5 Proz. Kochsalz und 10 Proz. milchsauren Kalkes.

III. Bouillon mit Zusatz von 1 Proz. Pepton und 0,5 Proz. Kochsalz.

IV. Künstliche Nährlösung von der Zusammensetzung:

Milchzucker	100 g
Pepton	10 „
phosphorsaures Kali	0,290 g
phosphorsaures Ammoniak . .	0,5275 „
schwefelsaures Magnesium . .	0,275 „
schwefelsaures Ammoniak . .	0,115 „
Wasser	5000 g.

V. Künstliche Nährlösung von der Zusammensetzung:

milchsaurer Kalk	100 g
Pepton	10 „
phosphorsaures Kali	0,290 g
phosphorsaures Ammoniak . .	0,5275 „
schwefelsaures Magnesium . .	0,275 „
schwefelsaures Ammoniak . .	0,115 „
Wasser	5000 g.

VI. Künstliche Nährlösung von der Zusammensetzung:

Milchzucker	100 g
kohlensaurer Kalk	15 „
Chlorammonium	10 „
phosphorsaures Kali	0,290 g
phosphorsaures Ammoniak . .	0,5275 „
schwefelsaures Magnesium . .	0,275 „
schwefelsaures Ammoniak . .	0,115 „
Wasser	5000 g.

Alle die oben aufgezählten Nährflüssigkeiten wurden in Pasteurschen Gärungskolben sterilisiert, mit dem Bacillus saccharobutyricus geimpft und im Brutschrank bei 35° stehen gelassen.

In der Nährflüssigkeit I (Bouillon + Milchzucker + Pepton) stellte sich schon nach 16 Stunden eine lebhafte Gärung ein. Die Gärung verlief anfangs im höchsten Grade stürmisch, allmählich wurde sie schwächer, dauerte jedoch mehrere Wochen lang. Es war somit klar, daß der Milchzucker bei Gegenwart von Pepton durch den Bacillus saccharobutyricus vergoren wird. In Anbetracht der Ergebnisse der oben geschilderten Versuche mit Rohkulturen war es aber merkwürdig, daß auch die Nährflüssigkeit II (Bouillon + milchsaurer Kalk + Pepton) in Gärung geriet. Der Verlauf der Gärung gestaltete sich jedoch hier etwas anders. Die Gärung, die nach 13 Stunden nach dem Impfen begonnen hatte, ging anfangs nicht so stürmisch vor sich, wie im vorigen Falle, wurde sehr bald schwächer und dauerte viel kürzer (16 Tage). Anscheinend konnte aus den hier mitgeteilten Thatsachen kein anderer Schluß gezogen werden, als daß der milchsaure Kalk gleichfalls unter dem Einflusse des Bacillus saccharobutyricus einer Gärung unterliegt. Wie vorsichtig man aber bei derartigen Schlußfolgerungen sein muß, beweist die folgende Thatsache: als ich die Nährflüssigkeit III (Bouillon + Pepton) mit dem Bacillus saccharobutyricus geimpft hatte, beobachtete ich, daß letztere gleichfalls in Gärung geriet; auch hier dauerte dieselbe nur einige Tage und verlief sehr träge; es wurde dabei so wenig Gas gebildet, daß man dessen ganze Menge in einem einzigen Eudiometer

zu sammeln vermochte. Es wurde mir somit klar, daß die in beiden letzteren Fällen stattgefundene Gärung wahrscheinlich auf Kosten der in der Bouillon enthaltenen Kohlehydrate, in der Nährflüssigkeit II also nicht auf Kosten des darin enthaltenen milchsauren Kalkes vor sich gegangen ist. In allen drei Fällen (Nährflüssigkeiten I, II und III) konnte man den Geruch nach Buttersäure deutlich wahrnehmen. Ich untersuchte speziell die vergorene Flüssigkeit II (Bouillon + Pepton + milchsaurer Kalk). Das Resultat war dasselbe wie bei der Untersuchung der Milch: in der Flüssigkeit waren Ameisensäure, Buttersäure, eine höhere Fettsäure (möglicherweise Valeriansäure) und Spuren von Aethylalkohol enthalten. Die nach dem Abdestillieren der Fettsäuren hinterbleibende Flüssigkeit wurde bis zur Syrupkonsistenz eingedampft, mit Aether ausgeschüttelt, der Aether abdestilliert, der Rückstand in Wasser gelöst, mit Zinkkarbonat gekocht, der hierbei entstandene Niederschlag abfiltriert und das eingeengte Filtrat zur Krystallisation stehen gelassen. Die ausgeschiedenen Krystalle von milchsaurem Zink wurden mehrmals umkrystallisiert und über Schwefelsäure getrocknet. Es wurden nun 0,7704 g dieser Krystalle abgewogen und der Krystallwassergehalt, sowie der Zinkgehalt derselben bestimmt. Es betrug:

der Krystallwassergehalt 0,1386 g = 17,97 Proz.
„ Gehalt an Zinkoxyd 0,2094 „ = 27,18 „

während die Formel des gärungsmilchsauren Zinkes für

den Krystallwassergehalt 18,19 Proz.
„ Zinkoxydgehalt 27,29 „

verlangt.

Es blieb somit auch die Modifikation der Milchsäure unverändert; bekanntlich wird unter dem Einflusse einiger Bakterien der milchsaure Kalk so vergärt, daß die linksdrehende Modifikation der Milchsäure zersetzt wird, während die rechtsdrehende zurückbleibt[1]). In Hinblick darauf, daß die in der Nährflüssigkeit II enthaltene Milchsäure keine qualitative Veränderung erfuhr, und daß ferner auch die Nährflüssigkeit III, in welcher weder Milchzucker, noch milchsaurer Kalk enthalten waren, in Gärung geriet, kann als sicher betrachtet werden, daß die Milchsäure von dem Bacillus saccharobutyricus nicht angegriffen wird. Die Versuche mit den Nährflüssigkeiten IV und V beweisen diese Behauptung in der vollkommensten Weise: während nämlich die Nährlösung V unter keinen Umständen zum Gären gebracht werden konnte, geriet die Nährlösung IV in 48 Stunden nach dem Impfen in lebhafte Gärung. Es wurde damit bewiesen, daß der Bacillus saccharobutyricus in Gegenwart von Pepton und Mineralsalzen wohl den Milchzucker, nicht aber den milchsauren Kalk zu vergären vermag. Ob Pepton durch Ammoniaksalze ersetzt werden kann, darüber gab der Versuch mit der Lösung VI Auskunft. Eine Lösung, die neben Milchzucker ausschließlich Mineralsalze (Stickstoff

---

1) Frankland and Mac Gregor, Sarcolactic acid obtained by the fermentation of inactive lactic acid. (Transactions of the Chemical Society. 1893).

nur in Form von Ammoniaksalzen) enthielt, geriet unter dem Einflusse des Bacillus saccharobutyricus in ca. 60 Stunden nach dem Impfen in Gärung. Dieselbe verlief zwar sehr träge, dauerte nur einige Tage, aber es konnte in dieser Lösung mit Hilfe der oben beschriebenen Methoden Buttersäure sicher nachgewiesen werden. Damit glaube ich den unwiderlegbaren Beweis erbracht zu haben, daß der Bacillus saccharobutyricus den Milchzucker direkt, also ohne vorherigen Uebergang in Milchsäure, zu Buttersäure vergärt. Obwohl dieser Bacillus keine erhebliche Zersetzung des Kaseïns veranlaßt, so ist jedoch seine Entwickelung an eine entsprechende stickstoffhaltige Nahrung gebunden. Vergleicht man die stürmische Gärung, die er in der Milch erzeugt, mit jener ruhigen Gärung, die von ihm bei sonst vollkommen gleichen Umständen in milchzuckerhaltiger Bouillon oder in milchzucker- und peptonhaltiger Mineralsalzlösung und namentlich in peptonfreier, milchzuckerhaltiger Minerallösung veranlaßt wird, so sieht man deutlich, daß die Eiweißstoffe der Milch für diesen aus Käse herstammenden Bacillus die geeigneteste Form der Stickstoffnahrung bieten, daß Pepton bei weitem dieselben vollständig zu ersetzen nicht im Stande ist und daß Ammoniaksalze nur gerade dazu reichen, sein Wachstum und seine Gärthätigkeit für eine Zeit lang zu unterhalten. Es ist demnach klar, daß der Bacillus saccharobutyricus die Eiweißstoffe der Milch zur Unterhaltung seines Lebensprozesses verarbeitet und somit, daß bei der Vergärung der Milch eine Eiweißzersetzung, wenn auch nur in geringem Maße, stattfinden muß. Damit wird auch erklärt, weshalb in der durch den Bacillus saccharobutyricus vergorenen Milch der Gehalt an gelöstem Stickstoff größer erscheint, als es den in der Milch ursprünglich vorhandenen löslichen stickstoffhaltigen Stoffen entspricht.

III. Analyse der von dem Bacillus saccharobutyricus gebildeten Gase.

Um über die von dem Bacillus saccharobutyricus gebildeten Produkte eine vollständige Uebersicht zu gewinnen, war es notwendig, auch die von demselben bei der Vergärung der Milch sowie anderer Nährflüssigkeiten gebildeten Gase zu analysieren. Die Analyse wurde nach den Bunsen'schen gasometrischen Methoden ausgeführt.

Im ganzen habe ich eine vollständige Analyse der bei der Gärung der Milch gebildeten Gase und zwei ebensolche Analysen der bei der Gärung von milchzucker- und peptonhaltiger Bouillon gebildeten Gase ausgeführt, außerdem habe ich noch in zwei besonderen Proben die Menge der gebildeten Kohlensäure bestimmt. Ich habe mich mit einer einzigen Gasanalyse aus dem Grunde nicht begnügt, weil es mir empfehlenswert zu sein schien, über die Veränderungen, welche die Zusammensetzung der Gase im Verlaufe der Gärung erleidet, einige Auskunft zu gewinnen.

Im nachfolgenden sind die Resultate dieser Gasanalysen zusammengestellt.

Tabelle I. Analyse der bei der Gärung der Milch gebildeten Gase.

	Abgelesenes Volumen in ccm	Temperatur	Luftdruck in mm	Quecksilberhöhe im Eudiometer in mm	Auf 0° und 1000 mm Druck reduziertes Gasvolumen in ccm
Gesammeltes Gasvolumen	102,82	16,9° C	737,6	34,5	66,50
Nach Absorption der Kohlensäure	80,66	15,2	740,5	133,2	45,38
Nach Zusatz von Sauerstoff	—	—	—	—	73,08
Nach der Explosion . .	11,98	15,5	749	401,3	3,78
Nach Absorption d. Sauerstoffes mit pyrogallussaurem Kali	1,16	15,1	749,5	448,9	0,31

Der Sauerstoff wurde in zwei Portionen zugesetzt. Der Uebersichtlichkeit wegen gebe ich für das nach Zusatz von Sauerstoff erhaltene, auf 0° und 1000 mm reduzierte Gasvolumen bloß die Zahl 73,08 an. Diese Zahl wurde aus den drei Zahlen für die reduzierten Volumina v_2, v_3 und v_4, wo

v_2 = dem nach dem ersten Zusatz von Sauerstoff vorhandenen reduzierten Volumen

v_3 = dem nach der Explosion vorhandenen reduzierten Gasvolumen

v_4 = dem nach dem zweiten Zusatz von Sauerstoff vorhandenen reduzierten Volumen, — nach der Formel $v_2 + (v_4 - v_3)$ berechnet.

Aus den Zahlen der ersten Tabelle berechnet sich die Zusammensetzung des Gases zu:

Kohlensäure	21,12 ccm	=	31,76 Proz.
Brennbare Gase	45,07 „	=	67,77 „
Rest (Stickstoff)	0,31 „	=	0,47 „

Zur Verbrennung von 45,07 ccm Gas wurden verbraucht 73,08 —45,38—(3,78—0,31) = 24,23 ccm Sauerstoff.

Nach den Gleichungen $x + y = 45{,}07$

$$2x + \frac{y}{2} = 24{,}23$$

läßt sich der Gehalt an Wasserstoff und Methan berechnen, und wir erhalten:

Methan	= 1,13 ccm	=	1,70 Proz.
Wasserstoff	= 43,94 „	=	66,07 „

In einer weiteren Fraktion der Gase wurde noch die Kohlensäure allein bestimmt. (Schluß folgt.)

Is the red Torula a genuine Saccharomyces?

By
J. Christian Bay,
Bacteriologist of the State Board of Health,
Deo Moines, Jowa, U. S. A.

The article by Mr. A. P. Swan entitled: "On the endospore formation and general description of a red yeast", in the first number of this periodical, for the current year, induces me to make a few remarks, by way of kind criticism which will be received, it is hoped, in the same spirit governing their appearance.

Mr. Swan's paper begins with the statement that Saccharomyces are classed under the Ascomycetes, by virtue of their faculty of forming endospores. The opinion of the Copenhagen school, on this point, is yet, we believe, that Saccharomyces cannot be regarded as Ascomycetes [1]), and the reasons for making a distinction arise preëminently from the fact that their modes of fructification — even with due allowance for the manifold variation in those of Ascomycetes — differ to a too great extent. In Ascomycetes, we have the sporocarp developed in or from a septated mycelium (branched hyphae), as a special organ of fructification. In Saccharomyces, on the contrary, spores are formed in any vegetative cell, under the proper conditions, we being unable to give to the mother-cells, logically, the same names as are applied to those of the vast numbers of Ascomycetes, or even to regard the mother-cells as organs whose special function is to serve as organs of fructification (sporangia). In addition to this, the formation of spores is, in these two groups of fungi, greatly different, so far as yet known to us.

The red Torula-forms which without justification hold the generic name of Saccharomyces — such as S. rosaceus — were not hitherto known to produce spores under the same conditions which are otherwise known to favor spore-formation. Mr. Swan now states that spores are formed in the species studied by him, at a temperature between 5° and 10° C, by cultivation upon wort-gelatine. — The description of this form of "Rosahefe" corresponds with that of a form which I have studied, four years ago, in Jörgensen's laboratory at Copenhagen, and which posessed the same peculiarity of elevating its colonies, when cultivated upon a 10 % wort gelatine, in large plates, a few mm above the surface of the gelatine, like small mounds, somewhat pointed. Both on that occasion, and later, I have tried to produce spores in this pseudo-Saccharomyces, but without success, and one of the raisons d'être of these lines is that the findings of Mr. Swan, as published, do not conclusively prove the presence of spores.

The statement of Mr. Swan regarding the results of Dr. Hansen's fundamental studies of spore-formation, as pointing "to a narrow range

1) Compare the theses of V. A. Poulsen and L. Kolderup Rosenvinge. Copenhagen 1888, both stating: "Saccharomyceterne ere ikke Ascomyceter".

of high temperatures", cannot be accepted, or must apply only to the temperature optima. Hansen found that in the cases of S. cerevisiae I, S. Pastorianus I, II and III, S. ellipsoideus I and II, and the types known as Carlsberg low yeasts I and II, the temperature optima for spore-formation lie between 25° C and 31,5° C, while the minima were somewhere between 3° C and the optima, and the maxima somewhere between the optima and 37° C. — These results certainly indicate a rather wide range of temperatures.

Mr. Swan's results which, if correct, would place this "Rosahefe" among the true yeasts point toward a temperature optimum of from 12° C to 12,7° C, for this species. This is indeed remarkable when compared with other results. We know of no wild yeast not having its optimum far above 12° C. — Of course this circumstance would afford no valid reasons for doubting the exactness of Mr. Swan's results. Valid reasons are, however, the following:

1) We have no evidence that the red Torula in question was at all submitted to pure cultivation. As is well known, only Hansen's[1]) method by which one can follow the development of cultures from individual cells, will secure satisfactory evidence along these lines.

2) It is not stated that the spores described would, in due course, escape through the walls of the mother-cell, and suffer further development. In fig. VIII on page 10, above, where ascospores fully mature are depicted, we observe no free spores, and in none of the figures, except No. IV, does there appear cells in the stage of development (young cells).

When the spore-like formations occurred, the cultures were old, and cannot have contained young and vigorous cells which will otherwise produce the best results.

If the formations in the contents of the cells are true spores can be determined conclusively only by actual and continuous observation of their entire life-history. We doubt, however, that spores have really been present, in this case, both because of the incomplete description rendered, and since all of the Torula-forms, as well as most of the lower fungi which posess the faculty of developing yeast-like cells will, when exposed to long cultivation necessarily resulting in a living upon narrow means, develop in their cell-contents certain spore-like aggregations, partly of unknown nature. The form in question was kept in tubes of wort-gelatine for about three weeks, and would, since being obligate aërobic, contrive to feed only upon a narrow column of wort-gelatine, the lower layers not being employed at all by the fungus, as means of nutrition. — Thus, in Mr. Swan's experiments the two eminent factors in the formation of spores, namely, aëration and starvation, must have been present and, in spite of the author's assertion, this red Torula would be no exception to the fundamental rules laid down by Hansen's studies. — It would have been of interest to observe, also, how the growth, and the spore-

---

1) Hansen, Practical Studies in Fermentation, 1896, p. 5—10; Jörgensen, Micro-Organisms and fermentation, 1893, p. 28—35; Bay, American Monthly Microscopical Journal XV, p. 35—40, 1894, et alibi.

formation, would appear on the same kind of gypsum blocks as are used in Hansen's experiments — the method used as a standard in Jörgensen's and other zymotechnic laboratories, — and under the conditions enumerated by Jörgensen in his Micro-Organisms and Fermentation, 1893, page 126.

Mr. Swan's observations regarding the relations between light and spore-formation are interesting in view of what we already know of the influence of light upon the development of the "red yeasts"[1]). Still, the statements are so vague and incomplete that no definite conclusions caw be drawn about this interesting and only sporadically examined question.

Until more complete studies are made, or published, I doubt whether the red Torula in question is really a spore-bearing yeast and, as such, entitled to enrollment in the genus Saccharomyces.

February, 1896.

Zusammenfassende Uebersichten.

Die Pilzkrankheiten der Kartoffelpflanze.

Zusammenfassende Uebersicht der innerhalb der letzten drei Jahre erschienenen Litteratur.

Von

Dr. C. Wehmer

in

Hannover.

Ohne daß dadurch gerade bemerkenswerte Wandlungen in den Anschauungen herbeigeführt würden, ist die Zahl der im Verlaufe der letzten Jahre (1892—1895) über pilzliche Kartoffelkrankheiten erschienenen Arbeiten und Beobachtungen eine ausnehmend große. Dieselben behandeln mit wenigen Ausnahmen die bereits seit länger bekannten Erkrankungen und befassen sich bezüglich dieser wiederum ganz vorzugsweise mit der praktisch wichtigen Frage ihrer Bekämpfung, so daß also die Zahl der sich mit einer wissenschaftlichen Bearbeitung einiger noch mehr oder weniger kontroversen älteren Krankheiten sowie mit neu beobachteten Krankheitserscheinungen beschäftigenden Arbeiten stark zurücktritt.

Weit mehr als die Hälfte der Litteraturerscheinungen behandelt die „Kartoffelkrankheit" schlechthin, also die Erkrankung von Laub und Knollen durch Phytophthora infestans de By und deren Bekämpfung durch Kupfermittel, so immerhin ein beredtes Zeugnis für die rege Thätigkeit auf dem Gebiete des praktischen Versuchs-

1) See Elfving, Studien über die Einwirkung des Lichtes auf die Pilze. Helsingfors 1890.

wesens ablegend. Gegenüber dieser für den Praktiker wichtigsten Erkrankung fallen die übrigen relativ wenig ins Gewicht. Schorf (Grind, Krätze, Potato-Scab) und Macrosporiumkrankheit („blight") scheinen freilich insbesondere in Amerika öfter aufzutreten, über die zur Zeit anscheinend seltenere Kräuselkrankheit fehlen neuere Erhebungen jedoch ganz, ebenso über die schon oft erörterte „Naßfäule". Auch der Sklerotinienkrankheit der Stengel (Norwegen) ist seit de Bary Aufmerksamkeit meines Wissens nicht geschenkt und gleiches gilt für die Pockenkrankheit (Grind Sorauer's) der Knollen (durch Rhizoctonia Solani Kühn), die Stengelfäule („Schwarzbeinigkeit") durch Fusarium pestis Sor. sowie einige andere durch Periola, Cercospora [1]) etc. bewirkte Krankheitserscheinungen. Von den hier aufgezählten gelten jedoch die als „Schorf" und „Kräuselkrankheit" bezeichneten Erscheinungen als nicht ausschließlich durch parasitäre Einflüsse hervorgerufen. In den letzten Jahren neu zur Beobachtung gekommen ist eine durch Botrytis cinerea bewirkte Stengelfäule, weiter Blatterkrankung durch Phoma, sowie die „Schwarze Trockenfäule" der Knollen, etwaigenfalls auch noch Fäulniserscheinungen der basalen Region (Stengel, Wurzelsystem), die in einem speziellen Falle angeblich durch einen neuen Pilz (Entorrhiza Solani Fautr.) veranlaßt würden. Uebrigens scheint die „schwarze Trockenfäule" nach der neueren Mitteilung von Sorauer (57) nicht gerade als parasitäre Erkrankung angesehen zu werden. Die gewöhnliche „Trockenfäule" endlich wurde letzthin gemeinschaftlich mit A. Borchers von mir näher bearbeitet und stellt sich danach entgegen der bisherigen Meinung als eine reine Mycelpilzfäule dar, so daß das wesentliche der erst auszugsweise veröffentlichten Resultate an der entsprechenden Stelle mit aufgeführt ist. Behufs Erörterung des augenblicklichen Standes unserer Ansichten mußte gelegentlich auch auf die eine oder andere ältere Arbeit zurückgegriffen werden.

Die letzten zusammenfassenden, auch die Kartoffelkrankheiten näher berücksichtigenden Publikationen nehmen — mit Ausnahme des bis Ende 1894 reichenden Werkes von Tubeuf (70) — die Litteratur bis zum Anfang der neunziger Jahre in sich auf; das gilt also für die übersichtliche, verdienstvolle Zusammenstellung der bis dahin beschriebenen Krankheiten von Seiten O. Kirchner's (27), wie die zweite Auflage des eingehenderen Lehrbuches von Frank (16). Letzterer behandelt im einzelnen als bis dahin beschrieben: Pockenkrankheit, Schorf, Sklerotienkrankheit, Stengelfäule (Schwarzbeinigkeit = feuchter Brand?), Kräuselkrankheit, Krautfäule, Knollenfäule, während Kirchner von pathogenen Pilzen neben den bekannteren noch aufnennt: Cercospora concors Sacc., Vermicularia atramentosa B. u. Br., Leptosphaeria circinans Sacc., Periola tomentosa. Es wären da also als aus den letzten Jahren hinzukommend u. a. noch nachzutragen: Botrytis, Phoma, Macrosporium, Fusarium, Alternaria, Entorrhiza (?), so-

1) cf. die Zusammenstellung bei O. Kirchner (27); desgl. übrigens Sorauer (55) p. 7. — Die oben angeführte Entorrhiza bedarf zunächst noch der Sicherstellung.

wie weiter der Cramer'sche (11) „Naßfäule"-Erreger und das etwaige Schorf-Bacterium Bolley's (5); im übrigen wären wohl der Myxomycet (Spongospora) und Rostpilz (Sorosporium) als Schorferreger zu streichen, da hier voraussichtlich ein Hyphomycet [Lagerheim (29), cf. unten auch Thaxter (67)] vorliegt.

In der hier über die umfangreiche jüngste Litteratur zu gebenden Uebersicht — bei der im übrigen zu bedenken ist, daß trotz Anstrebens möglichster Vollständigkeit doch stets Lücken bleiben müssen — sei der Stoff auf folgende Kapitel verteilt: 1) Phytophthorakrankheit, a. Auftreten, b. Bekämpfung; 2) Schorfkrankheit (Scab); 3) schwarze Trockenfäule; 4) Stengelfäule durch Botrytis (bzw. Sclerotinia); 5) Lauberkrankung durch Macrosporium und Phoma; 6) Kräuselkrankheit; 7) Bakterienkrankheiten (Naßfäule, Bakteriosis); 8) Trockenfäule („Schimmelkrankheit"); 9) Sonstige Krankheiten.

1) Phytophthorakrankheit.
(Krautfäule, Knollenfäule z. T.)

a) Auftreten.

Während das Jahr 1892 mit der vorwiegend trockenen Sommer-Witterung wenig oder gar nicht unter der Krankheit zu leiden hatte (Europa), bot insbesondere 1894 wieder hinreichend Gelegenheit zur Feststellung mehr oder minder erheblicher Schäden, die übrigens nach Dodge (12) u. Anderen in Nordamerika auch im Jahre 1892 nicht gefehlt haben, dagegen 1893 nach Sturgis (63) ganz zurücktraten [cf. auch Galloway (18) u. A.] Notizen über das Auftreten in Deutschland und den Niederlanden liegen z. B. von Sorauer (53), sowie Ritzema-Bos (43) vor und solche ließen sich wohl unschwer vermehren; so trat wenigstens eine rasch umsichgreifende Krautfäule 1894 auch im Hannoverschen auf, sie fehlte, beiläufig bemerkt, gleichfalls nicht auf der Insel Helgoland, deren im übrigen unbedeutender Kartoffelbau von der sogen. „Kartoffelallee" der Reisebücher eine gewisse Berühmtheit besitzt. Ebenso war sie 1895 in der Provinz Hannover (Südharz, Solling) verbreitet, doch mangeln in allen diesen Fällen bestimmte Unterlagen zur annähernden Abschätzung des Schadens.

Neuere Beobachtungen über den Pilz selbst liegen nicht vor[1]). Ebensowenig ist die schon wiederholt behandelte, von ihm veranlaßte Knollenfäule Gegenstand einer nochmaligen eingehenderen Bearbeitung gewesen, so wünschenswert solche vielleicht auch sein mag. Speziell die winterliche „Trockenfäule" in den Kellerräumen ist in den meisten Fällen jedenfalls weder eine Phytophthora- noch eine Spaltpilzerkrankung, wenngleich sie zur Zeit dafür gilt (s. unten). Das Auftreten dieser wurde kürzlich von Schoyen (51) aus Norwegen gemeldet. Bezüglich der „Naßfäule" sind weitere Daten

---

1) Auf die Fischer'sche Bearbeitung der Peronosporeen in dem nunmehr fertig vorliegenden Bande der Algenpilze in der „Rabenhorst'schen Kryptogamenflora" verdient jedoch hingewiesen zu werden.

nach der Kramer'schen (11) Bearbeitung 1891 nicht bekannt geworden, als Spaltpilzkrankheit oder -Fäule gehört sie jedoch nicht in diesen Abschnitt. Kurz mag noch Erwähnung finden, daß die angenommene Ueberwinterung der Phytophthora in den Knollen von Böhm (4) geleugnet wurde, was insofern mit diesbezüglichen, gemeinschaftlich mit A. Borchers gesammelten Erfahrungen übereinstimmt, als in einer nicht kleinen Zahl von Fällen weder Mycel derselben in partiell trockenfaulen Knollen mikroskopisch aufzufinden, noch durch Kultur daraus zu isolieren war. — Einer unbedingten Richtigkeit der sonstigen etwas allgemein gehaltenen Angaben Böhm's soll damit aber nicht gerade das Wort geredet werden. —

b) Bekämpfung.

Die Publikationen über Bekämpfung der Krankheit bilden das Gros der pathologischen Litteratur der Kartoffelpflanze. Die Berichte über den Ausfall der Versuche sind so zahlreich, daß die einzelnen nur ganz kurz gestreift werden können [1]). Es dreht sich dabei zunächst um den Punkt, welches der vorgeschlagenen Mittel (fast ausschließlich Kupferpräparate) [2]) am wirksamsten ist und bei welchen Sorten sowie in welchem Zeitpunkte die Bespritzung am besten einschlägt. Daneben taucht jedoch die Frage auf, welcher Schaden bzw. Nutzen für die Pflanze (resp. die Ernte) mit dieser Behandlung verbunden ist und es muß bemerkenswert erscheinen, daß keineswegs alle Publikationen auf dem Boden einer uneingeschränkten Verwendung von Kupfermitteln stehen, obgleich die Mehrzahl der Erfahrungen für diese spricht. Diese Gegensätze hier näher zu erörtern, ist nicht unsere Sache; es mögen da viele Umstände (Sorte, Zeit und Art der Besprengung, Lage des Feldes, Witterung, Beschaffenheit der Präparate und noch manches andere) mitspielen.

Am günstigsten stellen sich die Erfahrungen für die Bordeauxbrühe; im großen und ganzen wirkte dieselbe vorteilhaft auf die Erhaltung des Laubes, verringerte die Zahl der kranken Knollen und ergab gegenüber ungespritzten erkrankten Pflanzen ein Plus an Ernte. Letzteres ist jedoch nicht Regel. Im einzelnen stellen sich nun die in gedrängter Kürze wiederzugekenden Erfahrungen folgendermaßen.

Masters (34) teilte Versuche mit einer Reihe von Sorten mit, wo der Krankheit durch Kupferbehandlung mit Erfolg entgegengetreten wurde. Ebenso günstig waren die Resultate, welche Brown (8) durch zweimaliges Besprengen mittelst Kupfervitriollösung erhielt, indem sämtliche dazu herangezogenen Sorten bessere Ernteergebnisse lieferten. Hunn (26), Fairschild (13), Blair (2) u. A. beschäftigten sich speziell mit der Bordeauxbrühe und Steglitz (59) prüfte vergleichsweise drei in Vorschlag gebrachte Mittel, von denen sich die Kupfervitriol-Kalk-Mischung am besten bewährte (dagegen nicht Kupfervitriol-Speckstein und Eisenvitriol-Kalk-Mischung); die

---

1) Bezüglich einiger hier nicht weiter erwähnten sei auf das Litteratur-Verzeichnis am Schlusse verwiesen.

2) Bezüglich der früheren Litteratur in dieser Frage sei auf die pathologischen Handbücher verwiesen. Die Bekanntschaft mit der günstigen Wirkung von Kupferpräparaten datiert schon aus den achtziger Jahren.

benutzten Sorten lieferten mit jener einen ansehnlichen Mehrertrag. Sorauer (58) erhielt mit Kupfervitriol-Kalk und Kupfervitriol-Speckstein bei den beiden zur Verwendung gekommenen Sorten zwar eine geringe Beeinträchtigung der Ernte, doch im Vergleiche mit dem andernfalls durch Phytophthora veranlaßten Schaden einen thatsächlichen Mehrertrag. Der Bericht von Blandfort (3) konstatiert einen vorteilhaften Einfluß der unter Syrupzusatz bereiteten Kupfervitriol-Kalk-Mischung insbesondere auf eine Reihe früher Sorten [1]. Aehnliche Berichte kommen aus England auch noch von anderer Seite, ebenso aus Nordamerika, wo Sturgis (63) insbesondere der Bordeauxbrühe den Vorzug erteilt. Die vorteilhafte Wirkung von Kupfermitteln (gleichfalls insbesondere Boullie bordelaise) ergiebt sich im ganzen auch aus einer Reihe von Versuchen (42), die in England und Schottland angestellt wurden.

Dagegen hob Liebscher (31) auf Grund der in den Jahren 1891 und 1892 durchgeführten Kupferungsversuche hervor, daß eine allgemeinere Verwendung derartiger Mittel kaum zu empfehlen sei, und berichtet, daß Besprengung mit Kupfervitriol-Kalk und Kupfervitriol-Speckstein 1891 erfolglos war, 1892 dagegen einen starken Ernteausfall gegeben habe. Leydhecker (30) fand die im Jahre 1892 bei einer Reihe von Sorten durchgeführte Kupferbehandlung als von kaum merklichem Einfluß, so daß weder eine nachteilige noch eine gerade sehr vorteilhafte Wirkung zu Tage trat. Kein besonders nachteiliger Einfluß — Einzelfälle ausgenommen — auf die Erträge ergab sich auch nach Hollrung (23) bei der Verwendung von Bordeauxbrühe und Kupfervitriol-Speckstein. Sempolowski (49) berichtete, daß die Besprengung mit verschiedenen kupfer- oder eisensulfathaltigen Flüssigkeiten bei „Magnum bonum“ zwar ein Zurücktreten der kranken Knollen zur Folge hatte, doch auch die Ernte verringerte. Montarini (35) sah bei Verwendung von Kupfervitriol-Kalk-Mischung (gegenüber Kupfervitriol, Kalkmilch, Borol) die besprengten Pflanzen sich etwas länger lebend erhalten, während Sempolowski (50) in einer zweiten Mitteilung erwähnt, daß auch die Dabersche Kartoffel bei Behandlung mit Bordelaiser Brühe 1894 weniger kranke Knollen hatte, der Ernteertrag gegen unbehandelte jedoch ziemlich gleich war; der Stärkegehalt war zwar etwas größer, dagegen die Knollen im Durchschnitt kleiner.

Die im übrigen auch anderweitig [2]) experimentell hinreichend gewürdigte verschiedene Widerstandsfähigkeit der einzelnen Sorten wurde dann weiterhin noch von Sheppard (52) erörtert und Girard (20) stellte Versuche über die Abwaschbarkeit (durch Regen) verschiedener Kupferpräparate an. Es muß hier endlich auch erwähnt werden, daß die Frage, ob die übliche Kupferbehandlung vom toxicologischen

---

1) Auf die zahlreichen Details aller dieser Arbeiten und Versuche einzugehen, ist hier, wo es sich ausschließlich um eine zusammenfassende kurze Uebersicht handelt, nicht der Ort. Sortenwahl, genauere Zusammensetzung der Spritzmittel, Erntegewichte und anderes sind etwaigenfalls somit in den Orginalarbeiten einzusehen. Eine eingehende Berücksichtigung der Einzelergebnisse würde den Umfang des Referates vervielfachen.

2) So speziell noch bei den Versuchen der Royal Dublin Society in Irland 1891/92. (Garden. Chronicle. 1892. p. 205.)

Standpunkte zu beanstanden sei, von T s c h i r c h (69) eingehender erörtert wurde. Zwar wird nach dessen Versuchen sowohl von Seiten der Wurzeln wie auch durch die Blattepidermis Kupfer in die Pflanze aufgenommen, doch ist die Menge so gering, daß ihr irgendwelche Bedeutung für den Menschen nicht zukommt.

Die Erklärung für die oft günstige Wirkung einer Kupferung sah man bislang wohl hauptsächlich in der notorischen Schädlichkeit von Kupferverbindungen für parasitische Pilze. Dem ist neuerdings insofern entgegengetreten, als von F r a n k und K r ü g e r (17) (nach dem Vorgange R u m m's (45) für das Weinblatt) nicht eine Beeinflussung der P h y t o p h t h o r a , sondern eine solche des Kartoffelblattes (und zwar in v o r t e i l h a f t e m Sinne) angenommen wurde. Es soll dazu eine einfache Berührung ohne Stoffübertritt genügen, da nach den Angaben dieser eine Aufnahme von Kupfer in das Gewebe überall nicht stattfindet. Die Sache steht wohl augenblicklich noch dahin, wie denn auch von anderer Seite (A d e r h o l d, A. Z i m m e r m a n n) der günstige Einfluß der Bordeauxbrühe nicht gerade mit dem K u p f e r in Verbindung gebracht wurde, aber wenn auch derartiges mitspielen sollte, so ist das Zurückgehen der Zahl kranker Knollen bei gekupferten Pflanzen doch kaum anders als durch direkte Schädigung der Pilzkeime befriedigend zu erklären; im übrigen bedürfte dann die nicht ganz seltene B e n a c h t e i l u n g des Laubes wie der ganzen Pflanze durch die Verwendung von Kupfersalzen (L i e b s c h e r, S o r a u e r und Andere) noch einer besonderen Erklärung, auch wäre die Differenz, welche bezüglich der Angaben über die thatsächliche Aufnahme dieser von Seiten der Pflanze noch besteht, zu beseitigen, denn unter Zugrundelegung der Resultate T s c h i r c h's (69) könnte man vielleicht geneigt sein, den etwaigenfalls erzielten vorteilhaften Einfluß auf die Vegetation der Pflanze als eine Folge der spurenweisen Kupferaufnahme (in irgend einer Verbindungsform) zu deuten, und erst in einer durch irgendwelche Umstände begünstigten Steigerung derselben einen Nachteil erblicken. Damit steht dann wieder schlecht in Einklang, daß nach O t t o (36) Wasserkulturpflanzen schon durch S p u r e n geschädigt wurden, ohne irgend nennenswerte Mengen aufzunehmen. Die erwähnte Reizwirkung nimmt F r a n k (16) übrigens auch schon in der neuen Auflage seines Lehrbuches als faktisch bestehend an. R u m m (46), welcher auch einen direkt schädigenden Einfluß festen Kupferhydroxyds auf einige damit in Berührung gebrachte Kryptogamenzellen zeigte, stellt sich neuerdings auf d e n Standpunkt, daß durch die Berührung mit der Bordeauxbrühe die gesamte phanerogame Pflanze resistenter gegen den Pilzangriff gemacht werde.

Ziehen wir aus der Summe der hier wiedergegebenen Resultate und Folgerungen kurz das Facit, so bleibt da: 1) daß in nicht wenigen Fällen eine Kupferung der Kartoffel (insbesondere mit Bordeauxmischung) von g ü n s t i g e m Einfluß auf Vegetation und Ernte gewesen ist. 2) Daß gelegentlich jedoch auch das G e g e n t e i l beobachtet wurde. 3) Daß in dem erstgenannten Falle neben der fungiciden Wirkung vielleicht noch ein anderes (irgendwelche direkte oder indirekte Begünstigung der Nährpflanze) in Frage kommt, über das zur

Zeit jedoch der definitive Entscheid noch ausstehen dürfte. Eine völlige Klärung der Sachlage wäre jedenfalls wünschenswert.

2) Schorfkrankheit.
(Potato-Scab.)

Während nach Einigen der „eigentliche" Schorf (= Grind, Krätze, Räude) der Kartoffelknollen mit Fremdorganismen nichts zu schaffen hat, sondern auf allzugroße Nässe [Schacht (48)], Wärme und Feuchtigkeit [Lopriore (32)] oder auch irgendwelche andere Umstände [Frank (16)], denen gegenüber die Knolle in dieser bestimmten Weise reagiert (Korkwucherung event. mit Gewebszerfall), zurückgeführt wird, entstehen nach Anderen Schorfbildungen auch unter ursächlicher Beteiligung pilzlicher Organismen. Es sind da sowohl Bakterien wie Mycelpilze und Myxomyceten namhaft gemacht worden, so daß damit also jedem Geschmacke Genüge geleistet wird.

Die frühere Angabe Brunchorst's [1]), derzufolge ein Myxomycet (Spongospora Solani) mit in Frage kommt, ist allerdings durch eine Mitteilung Lagerheims (29) entwertet. Jene Spongospora ist diesem zufolge ein Mycelpilz, der wohl mit dem Protomyces tuberum-solani Mart. (= Tuburcina Scabies Berk = Sorosporium scabies Fischer = Erysibe subterranea Wallr.) identisch ist. Auch Thaxter (67), sowie Beach (1) sprechen von einem solchen als Schorferreger, benennen ihn aber Oospora Scabies, ohne gerade das Verschiedensein von jenem zu zeigen. Dieser Meinung ist, wenn ich recht verstehe, jetzt auch Bolley (7), welcher vordem (5) einen Spaltpilz verantwortlich machte, so daß Thaxter die Möglichkeit offen ließ, daß zwei verschiedene Organismen in Frage kämen. Immerhin ist die Krankheit in Amerika ziemlich verbreitet, wie die ansehnliche Zahl gerade der amerikanischen Publikationen über sie und ihre Bekämpfung nahelegt; man scheint aber auch dort nicht ausschließlich auf dem Standpunkte der Annahme einer parasitären Erkrankung zu stehen. Erwähnt seien von den Mitteilungen noch die von Sturgis (62), Taft (65), Bolley (6, 7) und Beach (1) über Bekämpfung des Schorfs mittelst verschiedener Fungiciden, diejenigen von Wheeler, Towar und Tucker (73) über den Einfluß des Bodens auf sein Auftreten. Speziell Bolley schlägt am zuletzt genannten Orte eine Behandlung des Saatgutes mit einer Sublimatlösung (3-proz.) vor, die nach bezüglichen Versuchen von günstiger Wirkung war, ohne die Knollen selbst zu schädigen; Voraussetzung des Erfolges ist natürlich keimfreier Boden (Pilzkeime sollen in demselben Jahre hindurch persistieren können), sowie Vermeidung irgendwelcher Infektionen von außen. Uebrigens wurde weiterhin (41) auch Bordeauxmischunz vorgeschlagen, ohne daß die hier erzielten Resultate jedoch gang befriedigend waren, indem nur eine relative Besserung der gelegentlich sehr erheblichen Ernteausfälle konstatiert werden konnte. Beach empfiehlt, neben Sublimat, Eisen- oder Zinkvitriol.

---

1) Bergens Museum Aarsberetning. 1886. Bergen 1887. p. 217.

Bezüglich der nach Angabe nicht durch Parasiten bewirkten Schorfbildungen sollen äußere Verhältnisse (Lopriore l. c.) maßgebend sein und nach Frank (16) zeigt sich dieser Schorf besonders stark auf gemergelten Böden. Schulz-Lupitz [1]) endlich teilte mit, daß bei vergleichenden Versuchen nur die Knollen des mit Stallmist, hingegen nicht die des mit Stoppellupinen gründedüngten Feldes schorfig waren.

Neuere deutsche Bearbeitungen dieser hier besprochenen Erkrankung fehlen und im ganzen kann man sich dem Eindrucke kaum verschließen, daß eine genauere experimentelle Untersuchung der hierher gehörigen verschiedenartigen Erscheinungen zeitgemäß wäre. Wenn das einemal eine Art von Wundfäule (Frank l. c.) vorliegt, so deckt sich das nicht mit einer Lenticellen-Hypertrophie, welch beides als Erscheinungsform des nicht parasitären Schorfs angesprochen wurde; das Ergebnis der Düngungsversuche läßt sich für diesen Fall übrigens auch für eine kryptogame Ursache verwerten, durch die auch hier wohl wie in anderen ähnlichen Fällen Schorfbildungen veranlaßt werden könnten.

3) Schwarze Trockenfäule.

Unter diesem Namen beschreibt Sorauer (54) eine an ihm übersandten Kartoffeln beobachtete, mit Schwarzfärbung des Knolleninhalts verbundene Erkrankung, bei der neben Hyphen von Mycelpilzen (Rhizoctonia Solani, Fusarium S., Spicaria Solani) auch Spaltpilze das Gewebe durchsetzen, erstere im übrigen auch oberflächlich zur Sporenbildung gelangten. Als Krankheitsträger werden die Spaltpilze vermutet, doch steht die eigentliche Ursache der Erkrankung dahin. Die Verfärbung soll übrigens von dem Auftreten der Organismen unabhängig sein und ihr voraufgehen.

Eine zweite Mitteilung desselben (57) über den Gegenstand führt aus, daß die Neigung zu dieser Krankheit vielleicht durch zu starke Düngergaben lokal entstanden ist und durch ein eigentümliches Rotwerden der durchschnittenen Knollen erkannt wird. Sie scheint nach einem bezüglichen Anbauversuche (mit „Reichskanzler") erblich zu sein.

Nach der ersten Mitteilung und dem Charakter der dort aufgenannten Mycelpilze ist vielleicht nicht ganz ausgeschlossen, daß in jenem speziellen Falle auch den Mycelpilzen eine gewisse Rolle zukam, da jedenfalls Fusarium — trotz der entgegengesetzten Angabe in der Litteratur — unter bestimmten Verhältnissen selbst für gesunde Knollen infektionstüchtig sein kann (cf. unten).

4) Stengelfäule durch Botrytis (bez. Sclerotinia).

Sclerotinia Sclerotiorum (= Skl. Libertiana Fuck. = Peziza Sclerotiorum Lib.) wurde schon von de Bary [2]) als Kartoffelschädling genannt (Sklerotienkrankheit der Kartoffel in

1) Vortrag in der Deutsch. Landwirtsch. Gesellsch. 1893. (Zeitschr. f. Pflanzenkr. 1894. p. 316.)

2) Botan. Zeitung. 1886. p. 434.

Norwegen) und dürfte auch wohl in Deutschland vereinzelt beobachtet, wenn auch nicht beschrieben sein[1]). Sie greift unter für sie günstigen Verhältnissen (reichliche Niederschläge, dichter Stand, Beschattung, feuchte Lage) die Pflanzen vom Erdboden aus an, ohne gerade eine bedenkliche Ausbreitung anzunehmen (Norwegen als Ausnahme)[2]). Konidienbildung ist bei ihr jedenfalls noch nicht beobachtet. Daß auch Skl. Fuckeliana (= Botrytis cinerea = Peziza Fuckeliana) schädigend auftreten kann, wurde neuerdings von O. Kirchner (28) mitgeteilt. Offenbar gleichfalls vom Boden ausgehend, veranlaßte sie eine Erkrankung des Stengels, die mehrfach Eingehen der ganzen Pflanze zur Folge hatte, wobei jedoch die Knollen gesund blieben. Da es auch zur Konidienbildung kam, ist das Vorliegen der erstgenannten Art jedenfalls ausgeschlossen.

Von Ritzema-Bos (43) wurde dieser Pilz übrigens auch mehrfach (1891—1894) in Holland als Kartoffelschädling beobachtet und ebenso von Huntemann (25) sein Auftreten (1892) in Oldenburg angegeben. Bei dem fast omnivoren Charakter und seiner Gefährlichkeit als fakultativer Parasit erregt die Erscheinung jedenfalls kein besonderes Befremden. Die Schäden dürften jedoch im allgemeinen lokalisiert sein, da die Infektion als Regel wohl vom Erdboden aus stattfindet.

Die „Stengelfäule" durch Sclerotinia ist nicht mit der gleichbenannten und ähnlichen Erscheinung durch Fusarium pestis Sorauer[3]) zu verwechseln, welche nach Frank (16) in gleicher Weise auch durch die Made der Mondfliege bewirkt werden kann.

5) Lauberkrankung durch Macrosporium und Phoma.

Macrosporium wurde von Sturgis (63) in Nordamerika als Schädling auf Kartoffelblättern nach Insektenfraß angegeben, übrigens auch sonst gefunden[4]) und Macrosp. Solani speziell in Canada beobachtet, sowie neuerdings von Grosjean (21) erwähnt. Bordeauxbrühe wirkte nach Fairschild (13) auf den Pilz sehr nachteilig.

Ein Phoma (unbestimmter Art) fand Sorauer (53) auf zur Untersuchung eingesandtem welkenden und schwarzfleckig werdenden Laube (Sporengröße 8 $\times$ 4 μ).

6) Kräuselkrankheit.

Hinsichtlich der Erklärung der als „Kräuselkrankheit" benannten Erscheinungen gilt bekanntlich ähnliches wie für den „Schorf"; es

1) Eine diesbezügliche Angabe machte z. B. F. Cohn (Illustr. Landw. Ztg. 1887, No. 4.) — Vom Ref. wurde sie in dem nassen Sommer 1894 neben anderen Schädlingen (Phytophthora) bei Hannover gefunden. Das bezügliche schlecht aussehende Feld sollte nach Meinung des Eigentümers durch „Säureschäden" gelitten haben, auf deren Konto hier im allgemeinen so lange jede Pflanzenschädigung gesetzt zu werden pflegt, als nicht eine andere Ursache überzeugend nachgewiesen ist. Für Gartenbesitzer etc. jedenfalls ein empfehlenswertes Verfahren.

2) cf. auch Pammel, „Sclerotinia Libertiana Fuck. with bibliography of Fungus Root Diseases". (Transact. of the Acad. of Science of St. Louis. 1893. p. 191.)

3) Oesterr. landw. Wochenblatt. 1888. No. 33.

4) So von Fautrey in Frankreich (Revue mycol. 1895. p. 177.)

sind dafür sowohl anorganische Einflüsse wie auch Pilze in Anspruch genommen. Neuere Publikationen über diese Krankheit mangeln jedoch und wir begegnen in den letzten Jahren nur der Angabe von Ritzema-Bos (43), wonach dieselbe sich wiederholt (insbesondere auch 1894) in Holland gezeigt habe und öfter epidemischen Charakter hatte. Einige von dem Autor erwähnte Versuche scheinen demselben jedoch mehr für eine Beeinflussung durch den Boden zu sprechen. Eine infektiöse Natur für andere Fälle wird übrigens durch ältere Versuche (Oehmichen, Schnorrenpfeil u. a.) nahegelegt.

So ständen wir denn auch bezüglich dieser Erkrankungsart noch auf dem alten Standpunkte, der bereits Anfang der 70er Jahre von Schenk[1]) dahin präcisiert wurde, daß es zwei verschiedene hierher gehörige Erkrankungen (mit ähnlichen Symptomen) giebt, von denen nur die eine durch Pilze hervorgerufen werde. Aber auch bezüglich der Art dieser Pilze mangelt Uebereinstimmung, sodaß man schließlich annehmen müßte, die Erscheinung könne auf sehr verschiedene Weise zu stande kommen. Schenk nannte den von ihm ermittelten Pilz seinerzeit (1873) Sporidesmium exitiosum var. Solani, Hallier[2]) sprach (1876) von Pleospora polytricha Tul., Reinke u. Berthold (40) ermittelten ein Verticillium (V. atroalbum, 1879) und Kirchner (27) führt 1890 in seinem Lehrbuche neben den beiden letzteren ein Polydesmus exitiosus Kühn auf, während endlich Wolf[3]) (1887) als Veranlasser der Kräuselkrankheit allein Sporidesmium exitiosum var. Solani angiebt, und G. Winter[4]) (1878) wiederum von Pleospora herbarum Tul. [zu der er als (parasitische) besondere Konidienformen Sporidesmium exitiosum Kühn und Rhizoctonia tabifica Hall. zählt] spricht; neben ihr sollen hier aber auch noch Blattläuse, Milben, sowie Ernährungsstörungen in Frage kommen. Frank (16) verhält sich demgegenüber rein referierend, Kirchner (27) giebt dem Unentschiedenen der Sachlage Ausdruck, während Sorauer (56) etwaige Pilze auf jeden Fall nur sekundär beteiligt sein läßt, als eigentliche Ursache dagegen sehr starke Düngung ansieht.

Es zeigt dieser kurze Ueberblick jedenfalls zur Genüge, wie weit wir von einer Klarheit in dieser Sache noch entfernt sind.

---

1) Biedermann's Centralbl. f. Agrikulturchemie. Bd. II. 1875. p. 280.
2) Deutsche landwirtsch. Presse. 1876. p. 79.
3) Krankheit. der landwirtsch. Kulturpflanzen. (Herausgeg. v. W. Zopf.) Berlin 1887. p. 110.
4) Krankheiten der Kulturgewächse. Leipzig. 1878. p. 76.

(Schluß folgt.)

Original-Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

Mitteilungen aus der vom k. b. Staate subv. Versuchsstation für Bierbrauerei zu Nürnberg.

Ueber ein drittes Diastase-Achroodextrin und die Isomaltose.

Vorläufige Mitteilung.

Von

E. Prior.

Während nach der Arbeit von Brown und Morris[1]) die Existenz der von C. J. Lintner unter den Stärkeumwandlungsprodukten aufgefundenen Isomere der Maltose, die Isomaltose, schon stark in Zweifel zu ziehen war, kann deren Existenz nach den Veröffentlichungen von H. Ost[2]) und Ulrich[3]) nicht mehr wohl aufrecht erhalten werden.

Teils um zu einem eigenen selbständigen Urteile zu gelangen, teils um thunlichst Klarheit in gärungsphysiologischer Beziehung, d. h. über das Verhalten verschiedener Hefen gegenüber den Kohlehydraten der Bierwürze zu erhalten, habe ich die Zerlegung des Reaktionsproduktes, welches man nach Lintner und Düll durch unvollständige Verzuckerung von Kartoffelstärke mit Grünmalz erhält, aufgenommen.

Der Weg, welchen ich hierzu einschlug, war der zuerst von Ost befolgte mit dem Unterschied, daß ich zuvor aus dem erhaltenen Reaktionsgemisch, das noch Erythrodextrinreaktion zeigte, durch Gärung mit Hefe Saaz die vorhandenen leicht vergärbaren Zucker, Rohrzucker, Glukose und Fruktose, sowie den größten Teil der Maltose entfernte. In dem Gärrückstand mußte alsdann derjenige Isomaltoseanteil enthalten sein, welchen Bau[4]) als β-Isomaltose bezeichnet hatte.

Das unter Zusatz von wenig Hefewasser vergorene Produkt wurde nach dem Entfernen der Hefe, Aufkochen, Filtrieren u. s. w. eingedampft und vermittelst 80-proz. Alkohol[5]) in zwei Teile, einen größeren, die Hauptmenge der Dextrine enthaltenden unlöslichen Rückstand und einen, die Zucker enthaltenden löslichen Anteil zerlegt. Selbstverständlich gab der Dextrinanteil, mit essigsaurem Phenylhydrazin behandelt, nicht mehr die Spur eines krystallisierbaren Osazons, auch nicht mehr nach dem Eingießen der klaren Reaktionsflüssigkeit in Wasser nach längerem Stehen.

1) Bayer. Brauerjournal. 1895. p. 495 u. f.
2) Chemiker-Zeitung. 1895. p. 1501 u. f.
3) Chemiker-Zeitung. 1895. p. 1523.
4) Wochenschrift für Brauerei. 1894. p. 1366.
5) Alle Alkoholwassermischungen sind in Alkohol-Gewichtsprozenten angegeben.

Der Rückstand zeigte ein spezifisches Drehungsvermögen von [α] D = 183° und ein Reduktionsvermögen von R = 13,47 Proz. (Maltose = 100). Derselbe wurde vorläufig aufbewahrt, während ich die Verarbeitung des in Alkohol von 80 Proz. löslichen zuckerhaltigen Anteiles vornahm.

Die Zerlegung des durch Abdestillieren des Alkohols und Eindampfen der Flüssigkeit erhaltenen Syrups in 30-proz. Lösung mit Alkohol von 97 Proz. wurde wiederum so weit fortgesetzt, bis der in dem 97-proz. Alkohol unlösliche Anteil anscheinend vollständig zuckerfrei war, d. h. unter den oben erwähnten Bedingungen kein krystallisiertes Osazon gab. Dieses abgeschiedene Achroodextrin hatte die spezifische Drehung [α] D = 170 und ein Reduktionsvermögen von 46,8, was auf Anwesenheit eines dritten, niederer drehenden und höher reduzierenden Achroodextrins unter den Stärkeumwandlungsprodukten der Diastase hindeutet.

Dieses Produkt befindet sich behufs weiterer Reinigung und Untersuchung in Arbeit und wird hierüber später berichtet.

Aus dem in 97-proz. Alkohol löslichen zuckerhaltigen Anteil, der mit Phenylhydrazin sogenanntes Isomaltosazon lieferte und naturgemäß keine oder nur geringe Mengen der höheren Dextrine enthält, habe ich durch weitere Zerlegung mit hochprozentigem Alkohol, nachdem zuvor wieder ein Teil des Zuckers durch Gärung entfernt worden war, das dritte Dextrin erhalten. Dasselbe hat ein annäherndes spezifisches Drehungsvermögen von 173 und ein Reduktionsvermögen von 53,7.

Diese Angaben mögen vorläufig als Annäherungswerte betrachtet werden. Sobald ich größere Mengen des neuen Körpers habe, mit dessen Studium ich beschäftigt bin, werden seine Eigenschaften, Elementarzusammensetzung, Molekulargewicht, sowie sein Verhalten gegen Diastase, Hefeenzyme und verschiedene Hefearten, sowohl für sich allein als auch in Mischung mit den anderen Dextrinen und Maltose, mitgeteilt.

Nicht unerwähnt darf ich aber lassen, daß dieses Dextrin im Gegensatz zu Achroodextrin I und II durch die Hefen Frohberg und Saaz zwar schwierig und nicht vollständig, von Frohberg jedoch mehr als von Saaz, unter den gewöhnlichen Bedingungen bei 25° C vergoren wird, daß aber beide Hefen das Achroodextrin III in meinem Vakuumgärapparat[1]) vollständig zu vergären scheinen.

Wird dieses Dextrin mit etwa 20 Proz. chemisch reiner Maltose gemischt, so erhält man mit essigsaurem Phenylhydrazin das für das sogenannte Isomaltosazon bislang als charakteristisch angesehene Osazon in der bekannten Krystallform vom Schmelzpunkt 150—152° C, aber keine Spur Maltosazon.

Ebenso verhält sich auch das in 80-proz. Alkohol unlösliche Dextringemisch von [α] D = 183 und R = 13,47 in Mischung mit Maltose. Ueberwiegt in dem Gemisch aber die Menge der Maltose diejenige der Dextrine, so erhält man Maltosazon und beim Eingießen

1) Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde. 1895. II. Abteilung. p. 630. — Bayerisches Brauerjournal. 1895. p. 193. 326 u. f.

der Mutterlauge hiervon in Wasser, Isomaltosazon. Ob die reinen Achroodextrine I und II in Mischung mit Maltose ebenfalls Isomaltosazon liefern, oder ob nur die Mischung von Achroodextrin III mit Maltose dieses Osazon giebt, ist noch durch weitere Versuche zu entscheiden.

Nach dem Verhalten dieses, auch in Methylalkohol löslichen Körpers und nach dem Verhalten des mit 97-proz. Alkohol abgeschiedenen löslichen zuckerhaltigen Anteiles nehme ich keinen Anstand, die Isomaltose als ein Gemenge, das in der Hauptsache aus dem von mir nachgewiesenen Achroodextrin III und Maltose bestehen dürfte, zu bezeichnen.

Bei der Zerlegung der Isomaltose mit Alkohol erhielt Ulrich (a. a. O.) ein Dextrin von $[\alpha]$ D = 174,4° und R = 48 Proz., das er nicht weiter untersuchte, welches aber wahrscheinlich das von mir isolierte dritte Achroodextrin in Mischung mit Achroodextrin II darstellt.

Der Grund, warum Lintner und Düll Achroodextrin III übersehen haben, liegt meiner Ansicht nach darin, daß nach der Abscheidung des Achroodextrins I bei der von ihnen befolgten Darstellung der Isomaltose eine scharfe Trennung der Produkte in solche, welche kein krystallisierbares Osazon liefern, und krystallisierbares Osazon bildende, nicht bewerkstelligt wurde und daß sie überhaupt bei ihren ersten Arbeiten einen zuckerhaltigen Anteil des teilweise zerlegten Reaktionsgemisches ununtersucht ließen[1]).

Bei der Verarbeitung der zuckerhaltigen Fraktionen zur Darstellung des Achroodextrins II konnte aber das dritte Dextrin deshalb nicht gefunden werden, weil Lintner und Düll zuvor diese Auszüge zur Entfernung der Hauptmenge des Zuckers mit viel Bierhefe vergären ließen[2]), wobei Achroodextrin III zum großen Teil mit vergoren wurde.

Ob mein Achroodextrin III mit dem nach Lintner und Düll theoretisch noch möglichen dritten, bislang nicht dargestellten Achroodextrin, $(C_{12}H_{20}O_{10})_2 + H_2O$, identisch ist, werden meine weiteren Untersuchungen ergeben.

Referate.

Winogradsky, S., Sur le rouissage du lin et son agent microbien. (Comptes rendus des séances de l'Académie des sciences de Paris. 18. Novembre 1895.)

Unsere Kenntnis über die Gewinnung der Textilfasern, soweit dabei die Fasern des Bastes in Frage kommen, beschränkte sich bisher fast auf die kurze Mitteilung van Tieghem's vom Jahre 1879: „On

1) Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1894. p. 339.
2) Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. 1894. p. 340.

extrait les fibres textiles par le rouissage, c'est-à-dire par l'action en grand des Amylobacter." (Sur la fermentation de la cellulose. Bulletin de la société botanique de France. T. XXVI. 1879. p. 28.) Entsprechend seiner Auffassung des Amylobacter als Ferment der Cellulosegärung identifizierte van Tieghem den Röstprozeß der Gespinnstpflanzen mit der Erscheinung der Cellulosegärung, obwohl doch die Textilfasern selbst aus Cellulose bestehen und dementsprechend eine Cellulosegärung jedenfalls kein Prozeß sein dürfte, geeignet, Cellulose zu isolieren.

Im Laboratorium Winogradsky's hat V. Fribes die Gewinnung der Flachsfaser durch die Wasserröste nach den neueren Methoden untersucht. Ueber die Resultate der Arbeit macht Winogradsky hier eine vorläufige Mitteilung.

Zunächst wird festgestellt, daß der Organismus, der bei der Rotte in Thätigkeit tritt, auf den Flachsstengeln, wie sie vom Felde kommen, schon vorhanden ist und hier auf eine Gelegenheit, sich zu entwickeln, wartet. Versuche, den Organismus aus rottendem Flachs mittels der Gelatinemethode zu isolieren, mißlangen, wie sich später zeigte, weil er auf Gelatine nicht wächst. Auf dem von Winogradsky schon verschiedentlich mit so schönen Erfolgen eingeschlagenen Wege der elektiven Kultur, also durch wiederholte Uebertragung auf sterilisierten Flachs in Wasser, das mit einer Oelschicht bedeckt war, gelang es, das Ausgangsmaterial, das ursprünglich ein Gemenge der verschiedensten Organismen vorstellte, so weit zu reinigen, daß der röstende Organismus unverkennbar war. Schließlich gelang es auch, durch Kartoffelkulturen bei Luftausschluß den Organismus der Röste rein zu gewinnen.

Derselbe ist ein verhältnismäßig großer Bacillus, der seine Sporen in endständigen Anschwellungen bildet (Kaulquappenform). Im jugendlichen Zustande sind seine Stäbchen 10—15 μ lang, 0,8 μ breit; oft trifft man aber weit längere gegliederte Fäden. Später werden die Stäbchen dicker (1 μ) und bilden eiförmige Anschwellungen von 3 μ Länge und 2 μ Dicke. Die Maße der darin gebildeten Sporen sind 1,8 $\times$ 1,2 μ.

Der Nachweis, daß dieser Organismus in Reinkultur imstande ist, Flachs zu rösten, bildet den entsprechenden Abschluß des vorbereitenden Teiles der Arbeit.

Weiterhin wurde die Gärungsthätigkeit des isolierten Bacillus untersucht; die Resultate werden in folgender Weise zusammengefaßt:

1) Der Bacillus vergärt Glykose, Rohrzucker, Milchzucker, Stärke, wenn die Lösung Pepton als Stickstoffquelle enthält; mit Ammonsalzen ernährt, ist er ohne Wirkung auf diese Kohlehydrate.

2) Pektinsubstanzen, Pektin und Pektinsäure, dargestellt aus Lein, Birnen, Carotten und Rüben, werden auch bei Ammoniakernährung zersetzt und zwar mit außerordentlicher Leichtigkeit, leichter als die erwähnten Kohlehydrate.

3) Cellulose wird ebensowenig wie Gummi arabicum angegriffen. Weiterhin wurde

4) festgestellt, daß mit reinem, sowie mit schwach angesäuertem und alkalischem Wasser ausgewaschene Pflanzenteile, Flachsstengel, Weißrüben, der Gärung mit dem isolierten Bacillus überlassen, den

größten Teil ihres Gehaltes an Pektinstoffen verloren, ja daß ihr Gewichtsverlust bei der Gärung ungefähr ihrem Gehalt an Pektinsubstanz entsprach. Die Röste des Flachses ist also wesentlich eine Pektingärung.

Ref., der sich seit längerer Zeit mit der Röste zunächst des Hanfes beschäftigt, kann die Resultate im ganzen durchaus bestätigen. Der Urheber der Isolierung der Textilfasern, die durch die Lösung der *Mittellamellen* des Rindengewebes *erreicht wird, findet sich schon* auf den Pflanzenteilen selbst. Er löst die Mittellamellen, die ja aus pektinsaurem Kalk bestehen, wie Mangin gezeigt hat. Mit der Cellulosegärung hat der Prozeß also nichts zu thun. Indes scheint der Organismus, den Ref. unter seinen Verhältnissen als Ursache der Röste findet, von dem oben beschriebenen verschieden zu sein. Er ist ein endosporer Bacillus, im sporenführenden Zustande von ausgesprochener Clostridiumform (kahnförmig), der mit dem van Tieghem'schen Amylobacter die Eigenschaft teilt, unter gewissen Bedingungen sich mit Jod blau zu färben. Die infolge verschiedener Gründe nahegelegte Annahme, daß der Organismus der Hanfröste obligat aërob wäre, hat sich allerdings als unrichtig erwiesen. Die zu dieser Annahme verleitenden Erscheinungeu erklärten sich in anderer Weise. Eine in sporenführendem Zustande kaulquappenförmige Form als Urheber einer Röste fand Ref. nur ein einzigesmal, wo die Röste unter einer Decke von flüssigem Paraffin erfolgte; im allgemeinen trat stets die Clostridiumform auf. Es kann ja aber nicht auffallen, daß auch in diesem Falle verschiedene Organismen dieselbe Thätigkeit ausüben. Behrens (Karlsruhe).

Pfuhl, E., Weitere Fortschritte in der Flachsgewinnung. (Sonderabdruck aus der Rig. Ind.-Ztg. 1895.) Riga 1895.

Seinem 1886 am gleichen Orte erschienenen Berichte über „Fortschritte in der Flachsbereitung“ läßt Verf. hier einen schätzenswerten und ausführlichen zweiten folgen, der gerade zu einer Zeit erscheint, wo die Flachsfrage auch in Deutschland wieder im Mittelpunkte der Diskussion steht.

Wir entnehmen der Broschüre als für den Botaniker und Bakteriologen von besonderem Interesse einige Daten über die Methoden zur Abscheidung der Faser. Verf. unterscheidet natürliche Röste und künstliche Röste und bei der ersteren wieder Tauröste, Wasserröste und gemischte Röste. Die Forschung über den Vorgang der Wasserröste hat seit dem Erscheinen des ersten Berichtes weitere Fortschritte nicht gemacht. Dieselbe ist ein Gärungsprozeß, verursacht durch den „Bacillus amylobacter“, durch welchen die Gewebeteile, welche die Textilfaser umhüllen, in Glykose und dann in Buttersäure umgewandelt werden. Diesem damaligen Stande des Wissens fügt Verf. hier eine Mitteilung bei, welche mit Rücksicht auf die Verwendung von Reinkulturen in anderen gärungstechnischen Betrieben für den Bakteriologen von besonderem Interesse ist. „In den vereinigten Staaten Nordamerikas haben die Herren Allison und Pennington ein Patent auf ein Verfahren genommen, welches das Rösten des Flachses, Hanfes, der Ramie u. s. w. in ein paar Tagen in jedem Wasser und

zu jeder Jahreszeit bewirken soll. Es werden dem Wasser gewisse anorganische Salze zugesetzt, durch welche der Mikrobe Amylobacter, dem, wie wir bereits gesehen haben, die Fermentation zugeschrieben wird, schnell zur Entwickelung und Vermehrung gelangt. Diese Salze enthalten Kali, Kalk, Magnesia, lösliches Eisen, Mangan, Verbindungen von Stickstoff, sowie Phosphorsäure und Kieselsäure. Sie finden sich z. B. in der Lys, einem Nebenflusse der Schelde, sowie in anderen Wässern, wo das Rösten mit Erfolg betrieben wird." „Findet man, daß in dem Röstwasser keine Mikroben der gewünschten Art vorhanden sind, so soll nach dem New Yorker Gewährsmann eine kleine Menge Wasser, das diesen Mikroben enthält, in dem Gewichtsverhältnisse von 1 : 100000 neben einer geringen Quantität der angeführten Salze jenem zugefügt, genügen, um es zum raschen Gelingen der Röste vorzubereiten, die dann in zwei Tagen beendet sein soll." Es wird aus dem Mitgeteilten nicht ganz klar, ob neben den Salzen auch eine Kultur des Mikroorganismus zugefügt werden soll, oder ob der Zusatz von ersteren genügt. Sicher ist aber, daß die chemische Zusammensetzung des Salzzusatzes hier keine Rolle spielt, daß vielmehr diese Bodenproben, die renommierten Röstwässern entstammen, dadurch wirken, daß sie Sporen und Keime des Erregers der Flachsrotte führen.

Was die künstlichen Rösten anlangt, so sei auf das Verfahren von Baur (1892) aufmerksam gemacht, das in Schlesien sich im Großbetriebe bewährt hat und darin besteht, daß der Flachs zunächst mit ganz verdünnter Schwefelsäure und dann mit einem Alkalibade in evakuierten Kesseln behandelt wird. Die Methode ist deshalb von besonderem Interesse, weil bei ihr das Ziel der ganzen Rotte klar hervortritt. Wie man sieht, ist die patentierte Baur'sche Röstmethode nichts als die Mangin'sche Methode zur Lösung der Intercellularsubstanz, die aus pektinsaurem Kalk besteht. Statt der Schwefelsäure wendet Mangin Salzsäure an. Ref. hat sich durch den Versuch überzeugt, daß es natürlich gleichgiltig ist, ob man Salz- oder Schwefelsäure anwendet, gerade so wie es bezüglich des alkalischen Bades gleichgiltig ist, ob man Soda, Kalilauge oder Ammoniak anwendet. Auch mit Hilfe des Mangin'schen Verfahrens gelingt die Isolierung der Bastfaserstränge der Textilpflanzen vorzüglich. Es kommt also bei der Röste nur auf die Zerstörung oder Lösung der Intercellularsubstanz an. Behrens (Karlsruhe).

Corrigendum.

Durch ein Versehen sind leider auf der Tafel Burri u. Stutzer zu dem Artikel: „Zur Frage der Nitrifikation im Erdboden" (dieser Jahrg. No. 4 u. 6/7) die Nummern der Figuren verwechselt worden, so daß Fig. 1 = Fig. 2 und umgekehrt Fig. 2 = Fig. 1 ist.

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

DR. WILHELM WINDISCH.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Frank, G., Die Bedeutung der Bakterien im Haushalte der Natur. Vortrag. (Aus: Jahrb. d. nass. Vereins f. Naturkunde.) gr. 8⁰. 11 p. Wiesbaden (Bergmann) 1896. 0,60 M.

Liebermann, L. und **Bittó, Bela v.**, Ein Beitrag zur Chemie der Hefezellen. (Mathem. u. naturwiss. Berichte aus Ungarn, redig. von Fröhlich. XI. 1894. p. 389.)

Roze, E., Sur quelque Bactériacées de la pomme de terre. (Compt. rend. Bd. CXXII. 1896. No. 9. p. 543.)

Starböck, K., Om Parasitsvampar. c. fig. Upsala (Sommerskurserna in Upsala 1895) 1895.

Tilden, Josephine E., A new Oscillatoria from California. (Bull. Torrey Bot. Club. 1896. p. 58. with Fig.)

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

d'Arsonval et Charrin, Action des diverses modalités éléctriques sur les toxines bactériennes. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1896. No. 3. p.96—99.)

Cavara, F., Ipertrofie ed anomalie nucleari in segnito a parassitismo vegetale. 8 p. c. tab. Pavia 1896.

Clendenin, Ida, Lasiodiplodia Ell. et Ev. n. gen. (The Botan. Gaz. 1896. p. 92. with tab.)

Bessey, C. E., The homologies of the Uredineae. (American Naturalist. Vol. XXVIII. 1895. p. 989—996. Plate XXXII.)

Duggar, B. M., Variability in the spores of Uredo Polypodii (Pers.) DC. (Proceedings of the American Ac. of Arts and Sc. Boston. Vol. XXX. 1895. p. 396. with tab.)

Ellis, J. B. and **Everhart, B. M.**, New species of Ustilagineae and Uredineae. (Bull. of the Torrey Botan. Club New York. Vol. XXII. 1895. p. 57—61.)

Genan de Lamarlière, Aureobasidium vitis Viala et Boyer. (Revue Mycologique. 1895. p. 54—56.)

Harvey, F. L., Contribution to the Pyrenomycetes of Maine I. (Bull. Torrey Botan. Club. 1896. p. 50.)

Jarius, M., Ascochyta Pisi bei parasitischer und saprophyter Ernährung. (Bibliotheka Botanika. 1896. Heft 34. mit Taf.) Stuttgart (E. Nägeli) 1896. 9 M.

Migula, W., Ueber sogenannte Kapselbildung bei Bakterien. (Dtsche tierärztl. Wochenschrift. 1896. No. 4/5. p. 28—29.)

Minck, F., Zur Frage über den Einfluß Röntgen'scher Strahlen auf Bakterien. (Münch. med. Wchschr. Jahrg. XLIII. 1896. p. 202.)

Sappin-Trouffy, Sur la signification de la fécondation chez les Urédinées. (Compt. rend. Bd. CXXII. 1896. No. 6. p. 333.)

Tracy, S. M. and **Earle, F. S.**, New species of parasitic Fungi. (Bull. of the Torrey Botan. Club. New York. Vol. XXII. 1895. p. 174—179.)

Vuillemin, P., Mucor et Trichoderma. (Compt. rend. Bd. CXXII. 1896. No. 5. p. 528.)

Wallengren, H., Studier öfver ciliata infusorier. II. 4⁰. Lund (Gleerup) 1896. 2 kr. 50 ö.

Physiologie.

Smith, Theobald, Reduktionserscheinungen bei Bakterien und ihre Beziehungen zur Bakterienzelle, nebst Bemerkungen über Reduktionserscheinungen in steriler Bouillon. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XIX. 1896. p. 181—187.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Boone, E., Des imperfections que présente quelquefuis l'analyse des mouts. (La Bière et les boissons fermentées. Année IV. 1896. No. 4. p. 61.)

Dejonghe, Gaston, Fermentation de la mélitriose et de la mélibiose. (Journ. de la Distillerie française. Année XIII. 1896. No. 619. p. 171.)
Duclaux, E., Le pouvoir ferment et l'activité d'une levure. Revue critique. (Ann. de l'Instit. Pasteur. Année X. Tome X. 1896. No. 3. p. 177.)
Schukow, Iwan, Gär- und Konkurrenzversuche mit verschiedenen Hefen. Auch ein Beitrag zur natürlichen Reinzucht. (Wchschr. f. Brauerei. Jahrg. XIII. 1896. No. 13. p. 302.)

Molkerei.

Knebel, Die Bedeutung der Bakteriologie auf dem Gebiete der Milchwirtschaft. (Fühling's landwirtschaftl. Ztg. 1896. Heft 3. p. 90—95.)
Nochmals das Pasteurisieren des Rahmes. (Der Landwirt. Jahrg. XXXII. 1896. No. 27. p. 158.)

Weinbereitung.

Steiner, Moritz, Ueber einige Versuche der Vergärung von australischen Mosten mit Reinhefen. (Zeitschr. f. Weinbau u. Weinhandel. 1896. No. 13. p. 111.)

Prefshefefabrikation.

Laboschin, Hohe Hefenausbeuten. (Alkohol. Jahrg. VI. 1896. No. 15. p. 225.)
Rofst, Karl, Melasse-Hefe-Maisch-Verfahren. (Alkohol. Jahrg. VI. 1896. No. 15. p. 227.)

Spiritusfabrikation.

Ganske, Die Vergärungsfähigkeit der Maischen verschiedener Kartoffelsorten. (Zeitschr. f. Spiritusindustr. Jahrg. XIX. 1896. No. 17. p. 137.)

Nitrifikation.

Godlewski, E., Zur Kenntnis der Nitrifikation. (Naturwissenschaftl. Rundschau. Bd. X. 1895. p. 605—606.)

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Gedoelst, L.. La viande et le lait des animaux tuberculeux au point de vue de l'hygiène alimentaire. (Bull. de l'agriculture. 1895. Heft 2. p. 1—66.)
Gilowkow, D. J., Ueber das Eindringen von Choleravibrionen in Hühnereier. (Wratsch. Jahrg. XVII. 1896. p. 183.) [Russisch.]

Wasser.

Hankin, Les microbes des rivières de l'Inde. (Annal. de l'Instit. Pasteur. Année X. Tome X. 1896. No. 3. p. 175.)
Thaxter, R., New or peculiar aquatic fungi. (The Botan. Gaz. 1896. p. 45. with tab.)

Boden.

Farbwerke vorm. Meister, Lucius & Brüning Höchst a. M., Die Bodenimpfung für Leguminosen mit reinkultivierten Bakterien.

Düngung.

Holdefleifs, Zur Konservierung des Stalldüngers. (Der Landwirt. Jahrg. XXXII. 1896. No. 30. p. 175.)
— —, Zur Konservierung des Stalldüngers. (Der Landbote. Jahrg. XVII. 1896. No. 34. p. 300.)

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Bargagli, P., Notizie sopra alcuni entomocecidi e sui lori abitatori. (Bull. della Società Botanica Italiana. Firenze 1895. p. 39—43.)
Bonnier, Gaston, Recherches expérimentales sur la miellée. (Revue générale de Botanique. T. VIII. 1896. p. 5—22.)
Bonnier, La miellée produite par les feuilles comparée à la miellée des Aphidiens. (Compt. rend. des seances de l'Académie des sciences de Paris. 1896. 25 janv.)

Frank, Ueber Kartoffel-Nematoden. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Jahrg. XIX. 1896. No. 17. p. 136.)

Frank, A. B., Die Krankheiten der Pflanzen. Ein Handbuch. 2. Aufl. Lief. 12. [Schluß.] 8°. IX, p. 225—363. Breslau (Ed. Trewendt) 1896. 1,80 M.

Frank, B., Vorsicht gegen die Zwergcikade. (Mitteil. d. dtsch. Landwirtschaftsgesellsch. 1896. Stück 7. p. 56.)

Frank, B. u. Krüger, F., Untersuchungen über den Schorf der Kartoffeln. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 1896. Ergänzungsheft 1. mit 1 Tafel.)

Humphray, In New Yersey beobachtete Krankheiten. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1896. p. 20.)

Kiehl, A. F., Zur Herz- und Trockenfäule der Rüben. (Der Landwirt. Jahrg. XXXII. 1896. No. 28. p. 163.)

Massalongo, C., Sopra alcune milbogalle nuove per la flora d'Italia. Seconda communicazione. (Bull. della Società Botanica Italiana. Firenze 1895. p. 25—27.)

— —, Nuovo contributo alla conoscenza dell' entomocecidiologia italica. Seconda communicazione. (Nuovo Giornale Botanico Italiano. N.-Ser. Vol. II. 1896. p. 45—57.)

Massee, Geo., Root diseases caused by Fungi. (Bull. of Miscell. Informat. Kew. 1896. No. 109. p. 1. with tabl.)

Molliard, Revue des travaux de Tératologie et de Pathologie végétales parus dans les années 1892, 1893 et 1894. (Rev. génér. de Botan. 1895. p. 465, 525.)

Molliard, M., Revue des travaux de Tératologie et de Pathologie végétales parus dans les années 1892, 1893 et 1894. [Fin.] (Revue générale de Botanique. T. VII. 1895. p. 525—543.)

Noack, F., Nachträgliche Notizen über französische phytopathologische Arbeiten. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1896. p. 21.)

Ormerod, Eleanor A., Report of observations of injurious insects and common farm pests, during the year 1895. With methods of prevention and remedy. Report XIX. 8°. 166 p. London (Simpkin) 1896. 1 sh. 6 d.

Ráthay, Emmerich, Erklärungen bezüglich der „Gommose bacillaire". (Die Weinlaube. Jahrg. XXVIII. 1896. No. 5. p. 49.)

Reuter, E., Bericht über die im Jahre 1894 in Norwegen beobachteten schädlichen Insekten und Pflanzenkrankheiten. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1896. p. 30.)

Rübsamen, Ew. H., Ueber russische Zoocecidien und deren Erzeuger. (Bull. de la Société impériale des naturalistes de Moscou. 1895. No. 3. p. 396. 6 Tafeln.)

Sajó, K., Die Akazien-Schildlaus (Lecanium robiniarum Dougl.). (Forstl. naturwissensch. Zeitschr. Jahrg. V. 1896. Heft 3. p. 81. mit 1 Abbildg.)

Schilberszky, H., Ein neuer Schorfpilz der Kartoffelknollen. (Ber. d. dtsch. Botan. Gesellsch. Jahrg. XIV. 1896. p. 36.)

Tonduz, Adolfo, Informe sobre una enfermedad del cacaotero. 8°. 8 p. San José de Costa Rica (tip. Nacional) 1895.

Zawodni, Der Traubenwickler im Winter. (Die Weinlaube. Jahrg. XXVIII. 1896. No. 14. p. 158.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Cori, C. J., Ein Objektträger zur Beobachtung von Objekten, welche zwischen zwei Deckgläschen eingeschlossen sind. (Zeitschr. f. wissenschaftl. Mikroskopie. Bd. XII. 1896. p. 300—301.)

Jacobsohn, P., Ueber die Lufttrocknung von Deckglaspräparaten mittels der Centrifuge. (Sep.-Abdr. aus Allg. med. Centralztg. 1896.) 8°. 6 p. 1 Tafel. Berlin (O. Coblentz) 1896. 1 M.

Kaiser, W., Die Technik des modernen Mikroskops. Ein Leitfaden zur Benutzung moderner Mikroskope mit besonderer Berücksichtigung der Untersuchungen aus dem Gebiete der Bakterioskopie. Mit einem Vorwort von H. Hagar. Lex.-8°. IV, 227 p. m. 180 Fig. Wien (in Komm. Perles) 1896. 4 M.

Mangin, Sur une methode d'analyse des tissus envahis par les champignons parasites. (Compt. rend. hebdomadaires de la Société de biologie à Paris. 1896. 15. févr.)

Mangin, G., Précis de technique microscopique et bactériologique. 8°. Paris (Doin) 1895. 3 fr.

Menzel, G. W., Brütofen mit Petroleumheizung. (Journ. f. med. Chemie u. Pharmazie. Bd. III. 1896. p. 464.)

Miyoshi, M., Saké-no-kasu als Nährboden für Pilzkulturen. (The Tokyo Botan. Magaz. 1896. No. 107. Pt. II. p. 1.)

Miyoshi, M., Anwendung japanischer Soja und deren Gemisch für Pilzkulturen. (The Botan. Magaz. Vol. IX. Tokyo 1895. No. 104.)
Noetzel, W., Ueber den Nachweis von Kapseln an Mikroorganismen. [Mitteilungen aus dem pathologischen Institute der Universität Halle a. S.] (Fortschr. d. Med. Bd XIV. 1896. No. 2.)
Schulze, Oefen für Mikrobenkulturen. (Répert. de Pharmacie. Bd. VII. Ser. 3. 1896. p. 150.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Aderhold, Rudolf, Ueber die Brauchbarkeit der Jensen'schen Warmwassermethode zur Verhütung des Hirsebrandes. (Der Landwirt. 1896. No. 9.)
Aschenbrandt, H., Preisliste und Gebrauchsanweisung über die Mittel zur Bekämpfung der Blattfallkrankheiten (Peronospora, Phytophtora, Fusicladium, Oidium [Aescherig], Schwarzbrenner u. s. w.) der Weinreben, Kartoffeln, Rüben, Hopfen, Tomaten u. s. w. und gegen viele pflanzliche Parasiten.
Beach, S. A., Pear Leaf Blight — Apple and Pear Scab. — Raspberry Anthracnose. (13. Ann. Rep. of the board of control of the New York Agr. Exp. Stat. Genera for the year 1894. Albany 1895. p. 573.)
— —, Treatment of Pear Scab in 1894. (l. c. p. 649. c. 2 tabl.)
— —, Raspberry Anthracnose. (l. c. p. 684.)
Kneifel, Rudolf, Die schwarze Blattlaus auf Samenrübenstauden und ihre Vertilgung mit Lysol. (Bl. f. Zuckerrübenbau. 1895. p. 305.)
Krüger, Friedrich, Erfahrungen über die Verwendbarkeit des Petroleums als Insekticid. (Gartenflora. 1896. p. 99, 125.)
Mosso, U. u. Paoletti, L., Physiologische Wirkung des Formalins. (Ann. di Chim. e di Farmacol. Bd. XXII. 1895. p. 546.)
Rideal, S., Disinfection and disinfectants; together with an account of the chemical substances used as antiseptics and preservatives. 8°. Philadelphia (J. B. Lippincott Co.) 1896. 4,50 $.
Schürmeyer, B., Bakteriologische Untersuchungen über ein neues Desinficiens, Kresol Raschig (Liq. Kresoli saponatus). Beiträge zur desinfizierenden Wirkung der Kresollösungen. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXI. 1896. p. 329—360.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

1896. Centralblatt Bd. II. No. 8.
für Bakteriologie und Parasitenkunde.
II. Abteilung.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.
Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.
In Verbindung mit
Prof. Dr. Adametz in Krakau, Prof. Dr. M. W. Beyerinck in Delft, Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen, Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Bonn, Privatdocent Dr. Wehmer in Hannover, Dr. Weigmann in Kiel, Dr. Wilfarth in Bernburg und Dr. Winogradsky in St. Petersburg
herausgegeben von
Dr. O. Uhlworm in Cassel.
Verlag von Gustav Fischer in Jena.

II. Band. Jena, den 30. Mai 1896. No. 9.

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Original-Mittheilungen.

Ueber die im Brennereiprozess bei der Bereitung der Kunsthefe auftretende spontane Milchsäuregärung.

[Mitteilung aus dem milchwirtschaftlich-chemischen Laboratorium des landwirtschaftlichen Instituts der Universität Königsberg i. Pr.]
Von
Dr. G. Leichmann.

Bekanntlich spielt die Milchsäuregärung in der Praxis der Brennerei eine wichtige Rolle, und zwar bei der Bereitung der „Kunsthefe". Während sie sonst im Betriebe als eine Krankheitserscheinung

gefürchtet und, wo sie etwa in stärkerem Maße hervorzutreten beginnt, mit allen Mitteln eingeschränkt wird, sucht man sie hier auf jede Weise zu befördern. Maercker sagt darüber in der neuesten (6.) Auflage seines Handbuches der Spiritusfabrikation p. 487 in dem Abschnitte „Die Grundsätze einer rationellen Hefebereitung“:

„Bei der Hefebereitung kommt Folgendes in Frage:

1) Es muß eine Hefemaische bereitet werden, in welcher die später vorzunehmende Hefeaussaat genügende Mengen von Nährstoffen zu ihrer Entwickelung vorfindet.

2) Die Hefe darf in ihrer Entwickelung in dieser Hefemaische durch keine gärungsstörenden Organismen gehemmt werden und es müssen deshalb jene Organismen sowohl in den zur Hefemaischebereitung dienenden Materialien getötet, wie auch während der Hefebereitung von der Hefemaische ferngehalten werden.

3) Diese Fernhaltung wird teils durch andere Maßregeln, teils aber durch die Einleitung einer Milchsäuregärung im Hefegut vor dem Zusatze der Mutterhefe erreicht, und da andere Gärungsformen der Entwickelung des Hefepilzes schädlich sind, muß dafür gesorgt werden, daß in der Hefemaische eine reine Milschsäuregärung eintritt [1].“

Eine sehr annähernd reine Milchsäuregärung kann bei Beobachtung bestimmter äußerer Umstände spontan im Hefegut eintreten.

Die Verhältnisse, unter denen dieses der Fall ist, sind durch die Untersuchungen Delbrück's und seiner Mitarbeiter eingehend klargelegt worden und gestalten sich hiernach etwa folgendermaßen:

Wenn man das bei höherer Temperatur eingemaischte Hefegut abkühlen läßt, so beginnt bei einer Temperatur von 40—42 ° R (= 50 bis 52,5 ° C) ein spontaner Säuerungsprozeß, indem das Milchsäureferment schon bei diesem hohen Wärmegrade sich zu vermehren imstande ist. Delbrück hat nun die wichtige Beobachtung gemacht, daß eine reine Milchsäuregärung nur bei 40 ° R (= 50 ° C) und darüber bestehen bleibt. Beläßt man das Hefegut längere Zeit bei dieser Temperatur, so bleibt es frei von flüchtigen Säuren und zeigt bei der mikroskopischen Untersuchung ein ganz charakteristisches Bild, das jedem Praktiker bekannt ist: Ueppig entwickelte, schlanke, unbewegliche Stäbchen von wechselnder Länge, vielfach einzeln, häufig zu zweien oder zu kurzen Kettchen verbunden, in denen die einzelnen Stäbchen sich meist scharf gegen einander abgrenzen, indem sie sich gewöhnlich nicht gradlinig aneinanderreihen, sondern mehr oder weniger stumpfe Winkel bilden. Sinkt aber die Temperatur, so treten sehr bald flüchtige Säuren auf und man kann mikroskopisch nachweisen, daß allerhand andere Spaltpilze sich zu entwickeln beginnen, mit dem Milchsäureferment in Konkurrenz treten und dieses oft schließlich ganz unterdrücken. Die Brenner wissen sehr wohl, daß in solchen Fällen eine große Gefahr für ihre Hefe besteht, indem diese bei niedrigen Temperaturen entwickelten Spaltpilze starke Hefe-

1) Ob das Milchsäureverfahren in der Kunsthefebereitung auch in Zukunft beibehalten oder ob es dem in neuester Zeit viel besprochenen Effront'schen Flußsäureverfahren wird weichen müssen, darüber scheinen die Akten noch nicht geschlossen zu sein.

feinde sind und die Züchtung einer gesunden, gärkräftigen Hefe vereiteln.

Jene charakteristischen Stäbchen der in der Praxis sogenannten reinen Milchsäuregärung, die hiernach für die Praxis ein großes Interesse bieten, sind nun meines Wissens bisher noch nicht rein kultiviert und in ihren morphologischen und physiologischen Eigenschaften nicht näher beschrieben worden. Ihre auffälligste Eigentümlichkeit, an welche meine im Folgenden mitzuteilenden Untersuchungen anknüpfen, ist die, bei ungewöhnlich hohen Temperaturen gut und kräftig zu gedeihen.

In einer Abhandlung über die freiwillige Säuerung der Milch (Milchzeitung. 1896. p. 67) teilte ich mit, daß in Milch wie bei gewöhnlicher Temperatur so auch bei höheren Wärmegraden (40° R = 50° C) spontane Milchsäuregärung eintritt und daß die hierbei wirksamen Bakterienarten von den bei der gewöhnlichen, in mittlerer Temperatur stattfindenden Spontansäuerung der Milch beobachteten verschieden sind. Ich beschrieb zwei Formen, welche als die vorwiegenden Erreger dieser bei höherer Wärme eintretenden Milchgerinnung angesehen werden müssen. Die eine dieser Formen stellt sich als ein Micrococcus dar, die andere aber ist ein Langstäbchen, welches in seiner mikroskopischen Erscheinung große Aehnlichkeit mit jenem im Hefegut auftretenden milchsäurebildenden Stäbchen erkennen läßt.

Kulturversuche, welche ich mit diesen Stäbchen des Hefegutes auf künstlichen Nährböden ausführte, schienen die naheliegende Vermutung, daß diese beiden Formen identisch sein möchten, zu bestätigen.

Als Untersuchungsmaterial diente ein stark saures Hefegut (20 cc der abgepreßten Würze = 2,5 cc Normalnatron) aus der Brennerei des Herrn Amtsrat Schrewe zu Kleinhof-Tapiau, welches nach der mikroskopischen Prüfung fast ausschließlich die charakteristischen, auf eine sehr rein verlaufene Milchsäuregärung deutenden Stäbchen enthielt. In der That konnten durch die chemische Untersuchung lediglich Spuren flüchtiger Säuren nachgewiesen werden. Auf Platten von Nähragar, welche mit diesem Material besäet wurden, entwickelten sich bei 37° C sehr zahlreiche Kolonieen, die ihrem Aussehen nach, bis auf ganz vereinzelte Ausnahmen, einer und derselben Art anzugehören schienen; wie es denn nach dem mikroskopischen Befunde nicht anders zu erwarten gewesen. Diese Kolonieen zeigten große Aehnlichkeit mit denjenigen, welche das erwähnte, aus spontan bei 50° C gesäuerter Milch gewonnene Stäbchen, unter den gleichen Verhältnissen kultiviert (cf. l. c. p. 69), darbietet. Von diesen Kolonieen wurden zahlreiche Stichkulturen in Agarröhrchen angelegt, welche im Brütschrank bei 50° C sich sehr gut und völlig untereinander übereinstimmend entwickelten. Wie die entsprechenden Kulturen jenes Stäbchens aus Milch, welches ich Bacillus lactis acidi nennen will, zeigten sie gleichmäßig kräftiges Wachstum im ganzen Stichkanal, aber keine Ausbreitung auf der Oberfläche. Auf schräg erstarrtem Agar bildete sich ein äußerst zarter, durchsichtiger, nicht über $^1/_2$—1 mm breiter Streifen, genau wie es Bacillus lactis

acidi zeigt. Die mikroskopische Untersuchung ergab überall jene charakteristischen Formen, welche im Ausgangsmaterial beobachtet worden waren.

In gewöhnlicher zuckerfreier Bouillon wächst dieses Stäbchen, wie Bacillus lactis acidi, nur kümmerlich unter leichter Trübung und ohne merkliche Aenderung der Reaktion; dagegen sehr gut mit starker Trübung und Säurebildung, wenn die Bouillon einen Zusatz von Traubenzucker oder Maltose erhalten hatte und zwar hier wie dort ohne jede Gasentwickelung.

Wenn also durch diese Kulturversuche die Annahme, daß die beiden in Rede stehenden Formen identisch sein dürften, an Wahrscheinlichkeit gewann, so fand sie weitere Bestätigung durch den Nachweis, daß die in dem sauren Hefegut enthaltene, also durch die Wirkung der beschriebenen Stäbchen erzeugte Milchsäure, nicht, wie man bisher ohne besondere Prüfung angenommen zu haben scheint, die optisch inaktive sogenannte Gärungsmilchsäure, sondern vielmehr die durch Schardinger entdeckte, optisch aktive, links drehende Modifikation der Aethylidenmilchsäure ist; wie denn auch die durch Bacillus lactis acidi in Milch gebildete Säure (s. l. c., p. 69) die Linksmilchsäure darstellt.

Trotzdem sind aber diese beiden einander so außerordentlich ähnlichen Formen nicht identisch. Es zeigte sich nämlich, daß das Stäbchen des sauren Hefegutes nicht wie Bacillus lactis acidi imstande ist, den Milchzucker zu vergären und in steriler Milch nur äußerst kümmerlich, ohne jede Veränderung der Reaktion gedeiht.

In Bouillon mit Milchzuckerzusatz wächst es ebenso kümmerlich wie in zuckerfreier Bouillon, ohne eine merkliche Aenderung der Reaktion hervorzurufen, während es, wie erwähnt, in derselben Bouillon bei Zusatz von Traubenzucker oder Maltose starke Trübung und Säuerung erregt.

Die mitgeteilten bakteriologischen Befunde wurden bei der Untersuchung von vier, zu verschiedenen Zeiten entnommenen Proben milchsaurer Maische aus der Brennerei zu Kleinhof-Tapiau und von zwei, durch die Güte des Herrn Dr. Mierau aus der Kornspiritus- und Getreide-Preßhefefabrik G. A. Kahlke zu Königsberg mir zur Verfügung gestellten Proben ohne Ausnahme bestätigt gefunden.

Nach dem um die Praxis der Brennerei im allgemeinen, wie auch besonders um die Aufklärung der Verhältnisse, unter denen sich das hier beschriebene milchsäurebildende Stäbchen im Hefegute rein zu entwickeln vermag, so hochverdienten Forscher erlaube ich mir, diese Form als Bacillus Delbrücki zu bezeichnen.

Indem ich hiermit diese vorläufigen Mitteilungen schließe, erlaube ich mir auf eine eventuelle praktische Verwertung meines Befundes hinzudeuten unter Verweis auf folgende Ausführungen in Maercker's Handbuch der Spiritusfabrikation (6.[neueste] Auflage. 1894). p. 495: „In der Brennerei erfolgt jetzt allgemein die Einleitung der Milchsäuregärung spontan, d. h. ohne daß ein besonderer Gärungserreger künstlich ausgesäet wird. In der Luft der Hefekammer, in welcher täglich Milchsäuregärungen stattfinden, in den Wandungen der Gefäße, im Staube u. s. w. sind, wenn der Betrieb erst ordnungsmäßig

im Gange ist, reichliche Mengen Milchsäurefermentes enthalten und diese, in die Hefemaische fallend, leiten dort die Milchsäuregärung ohne äußeres Zuthun ein. Nur zu Beginn der Kampagne macht die Milchsäuregärung Schwierigkeiten, weil der Milchsäurepilz während der Sommerpause der Brennerei ausgestorben oder doch derartig vermindert ist, daß die Milchsäuregärung nur schwierig und unrein eintreten kann und infolgedessen auch die zuerst bereiteten Hefen an Gärungskraft zu wünschen übrig lassen. Die Brenner ergriffen deshalb und ergreifen auch noch für die ersten Hefen der neuen Kampagne besondere Maßregeln, indem sie einige Tage zuvor ein aus Malz bereitetes Maischgut säuern ließen, die Säuerung dieses Gutes auf ein neues bei der entsprechenden richtigen Temperatur von 40° R = 50° C übertrugen, bis sie eine kräftige Milchsäuremaische erhielten und gleichzeitig auch das Milchsäureferment wieder in der Brennerei heimisch gemacht hatten. Diese Operation ist immerhin unbequem und auch nicht vollkommen sicher, und deshalb soll darauf hingewiesen werden, daß man neuerdings für die Zwecke der Säuerung des Rahms im Molkereibetriebe Milchsäurehefe künstlich züchtet und Reinzuchtanstalten (wie z. B. an dem milchwirtschaftlichen Laboratorium der landwirtschaftlichen Versuchsstation für Schleswig-Holstein zu Kiel) eingerichtet hat, welche für die Praxis reines Milchsäureferment, durch welches man zweifellos gleich in der ersten Hefemaische eine reine Milchsäuregärung einleiten kann, gewinnen. Man weiß allerdings, daß nicht ein einziger, sondern mehrere Milchsäure erzeugende Pilze existieren, also auch verschiedene Rassen und Arten wie bei der Alkoholhefe, von denen die eine schneller und unter Bildung anderer Nebenprodukte als die andere Milchsäure erzeugt, und es wäre vielleicht der Mühe wert, daß sich die Hefereinzuchtanstalt des Vereins der Spiritusfabrikanten angelegen sein ließe, die Rasse eines Milchsäurepilzes heranzuzüchten, welche zu Beginn der Kampagne den Brennereien für die Einleitung einer kräftigen und reinen Milchsäuregärung geliefert werden könnte."

Falls die Milchsäuregärung für die Folge in der Praxis der Kunsthefebereitung dieselbe Bedeutung behalten sollte, die ihr bis dahin zukam, dürfte es nicht schwer sein, der hier ausgesprochenen Forderung Maercker's nachzukommen durch Führung von Reinkulturen des hier beschriebenen Bacillus, der sich, wie gesagt, mit Hilfe von Agarplatten leicht aus milchsaurem Hefegut isolieren läßt und auf eventuell noch zu ermittelnden günstigeren Substraten fortgepflanzt werden könnte.

Für gütige Unterstützung durch Rat und That bin ich Herrn Fabrikbesitzer A. Mendthal und Herrn cand. phil. E. Mendthal in Königsberg zu großem Danke verpflichtet.

Königsberg, den 3. April 1896.

Ein neuer Buttersäuregärungserreger (Bacillus saccharobutyricus) und dessen Beziehungen zur Reifung und Lochung des Quargelkäses.

[Aus dem Laboratorium für Molkereiwesen der k. k. Jagellonischen Universität in Krakau.]

Von

Dr. Valerian v. Klecki.

Mit 1 Figur.

(Schluß.)

Tabelle II. Kohlensäuregehaltsbestimmung des bei der Gärung der Milch gebildeten Gases. Fraktion II.

	Abgelesenes Volumen in ccm	Temperatur	Luftdruck in mm	Quecksilberhöhe im Eudiometer in mm	Auf 0° und 1000 mm Druck reduziertes Gasvolumen in ccm
Gesammeltes Gasvolumen	16,57	17°	731	376	5,30
Nach Absorption der Kohlensäure	11,14	17,3°	731,4	412,3	3,18

Aus den Zahlen der Tabelle II ergeben sich 40 Proz. Kohlensäure. Der aus den Zahlen der ersten Tabelle berechnete Stickstoffgehalt liegt innerhalb analytischer Fehlergrenzen, und es ist nicht wahrscheinlich, daß bei dieser Gärung freier Stickstoff gebildet werde.

Tabelle III. Analyse der bei der Gärung milchzuckerhaltiger Bouillon gebildeten Gase. Fraktion I.

	Abgelesenes Volumen in ccm		Temperatur		Luftdruck in mm		Quecksilberhöhe im Eudiometer in mm		Auf 0° und 1000 mm Druck reduziertes Gasvolumen in ccm		
	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II	im Mittel
Gesammeltes Gasvolumen	43,58	43,73	20,1	20,9	747	747	172,37	171,94	22,54	22,53	22,53
Nach Absorption der Kohlensäure . . .	38,73	39,01	21,1	22	745,5	742,5	208,81	207,53	18,61	18,58	18,60
Nach Zusatz von Sauerstoff . . .	62,17		22,2		742,5		32,89		39,57		39,57
Nach der Explosion	25,01	24,61	21,45	21,9	748,3	747,5	312	304,57	9,67	9,64	9,66
Nach Absorption des Sauerstoffes m. pyrogallussaurem Kali	3,04		22		746		46,8		0,82		0,82

Aus den Zahlen der Tabelle III ergiebt sich folgende Zusammensetzung der Fraktion I des Gases:

Kohlensäure	3,93	ccm	= 17,44	Proz.
Wasserstoff	15,62	„	= 69,33	„
Methan	2,16	„	= 9,58	„
Stickstoff	0,82	„	= 3,64	„
			99,99	Proz.

Tabelle IV. Analyse der bei der Gärung milchzuckerhaltiger Bouillon gebildeten Gase. Fraktion II.

	Abgelesenes Volumen in ccm		Temperatur		Luftdruck in mm		Quecksilberhöhe im Eudiometer in mm		Auf 0° und 1000 mm Druck reduziertes Gasvolumen in ccm		
	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	im Mittel
Gesammeltes Gasvolumen	101,17	101,40	20,1	20,9	747	747	50,16	49,1	63,79	63,77	63,78
Nach Absorption der Kohlensäure . .	86,14	86,62	21,1	22,0	745,5	742,5	91,29	89,44	50,74	50,68	50,71
Nach Zusatz von Sauerstoff . . .									90,57	90,44	90,50
Nach der Explosion	36,87	36,87	22,2	22,2	747,5	747,5	291,4	291,4	14,85	14,85	14,85
Nach Absorption des Sauerstoffes mit alkalischer Pyrogalluslösung	1,86		22		746		447,38		0,48		0,48

Die Zahlen der Tabelle IV entsprechen folgender Zusammensetzung des Gases:

Kohlensäure	13,07	ccm	= 20,49	Proz.
Wasserstoff	50,03	„	= 78,44	„
Methan	0,20	„	= 0,31	„
Stickstoff	0,48	„	= 0,75	„

Der direkte Nachweis von Methan durch Einführung von KOH in das von Kohlensäure befreite und in ein Eudiometer überfüllte Gas wurde nicht geliefert; der Versuch mißglückte leider und wurde nicht wiederholt. Aus den oben angeführten Zahlen scheint jedoch hervorzugehen, daß zu Beginn der Gärung Methan gebildet wird, daß jedoch im weiteren Verlaufe der Gärung die Bildung dieses Gases rasch eine Abnahme erfährt.

Tabelle V. Kohlensäuregehaltsbestimmung der bei der Gärung von milchzuckerhaltiger Bouillon gebildeten Gase. Fraktion III.

	Abgelesenes Gasvolumen in ccm		Temperatur		Luftdruck in mm		Quecksilberhöhe im Eudiometer in mm		Auf 0° und 1000 mm Druck reduziertes Gasvolumen in ccm		
	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	I.	II.	im Mittel
Gesammeltes Gasvolumen	47,62	47,62	20,1	21,1	747	747	41,1	3,2	32,12	31,92	32,02
Nach Absorption der Kohlensäure . .	35,62	36,74	21,2	22	745,5	742,5	21,2	38,7	23,28	23,19	23,23

Die Zahlen der Tabelle V entsprechen einem Gehalte von 27,45 Proz. Kohlensäure in der Fraktion III der bei der Gärung von milchzuckerhaltiger Bouillon gebildeten Gase.

Tabelle VI. Zusammenstellung der Resultate der Gasanalysen.

	Die bei der Gärung der Milch gebildeten Gase in Proz.		Die bei der Gärung milchzuckerhaltiger Bouillon gebildeten Gase in Proz.		
	Fraktion I	Fraktion II	Fraktion I	Fraktion II	Fraktion III
Kohlensäure	31,76	40,03	17,44	20,49	27,45
Wasserstoff	65,98		69,33	78,44	
Methan	1,79		9,58	0,31	
Stickstoff	0,47		3,64	0,75	

Der im Verlaufe der Gärung stetig wachsende prozentuale Gehalt der Gase an Kohlensäure erklärt sich wohl zum Teil dadurch, daß im Laufe der Zeit die Kohlensäure von der gärenden Flüssigkeit in immer geringerem Maße absorbiert wird.

C. Vergleich des Bacillus saccharobutyricus mit anderen bekannten Buttersäuregärungserregern.

Wenn wir den Bacillus saccharobutyricus mit anderen Buttersäuregärungserregern vergleichen wollen, so müssen wir uns vor allem über den Begriff „Buttersäuregärung" Klarheit verschaffen. Bekanntlich verstand man darunter in früherer Zeit die durch bestimmte Mikroorganismen (B. amylobacter van Tieghem, Vibrion butyrique Pasteur, Clostridium butyricum Pražmowski) veranlaßte Umwandlung des milchsauren Kalkes in buttersauren Kalk. In späterer Zeit wurde von vielen Forschern beobachtet, daß die Buttersäure sehr häufig als Nebenprodukt bei vielen Gärungen, (namentlich Eiweißzersetzungen) aufzutreten pflegt.

Seitdem war man geneigt, als Buttersäuregärung jede Gärung zu bezeichnen, bei welcher Buttersäure gebildet wird. Dieser Auffassung trat Duclaux entgegen. Duclaux versteht unter Buttersäuregärung nur die unter dem Einflusse des Pasteur'schen Vibrion butyrique und ähnlicher Mikroorganismen stattfindende Vergärung des milchsauren Kalkes [1]). In den letzten Jahren wurden jedoch einige Mikroorganismen gefunden, welche die Fähigkeit besitzen, verschiedene Kohlehydrate, und darunter namentlich auch den Milchzucker, direkt zu Buttersäure zu vergären. Solche Mikroorganismen haben Perdrix [2]), Botkin [3]) und Grimbert [4]) kultiviert und beschrieben.

Demnach haben wir 3 verschiedene Haupttypen der Buttersäuregärung zu unterscheiden:

1) Le lait. 1887.

2) Sur les fermentations produites par un microbe anaérobie de l'eau. (Annales de l'Institut Pasteur. t. V. 1891. p. 286.)

3) Ueber einen Bacillus butyricus. (Zeitschrift f. Hygiene. Bd. XI. 1892. p. 421.)

4) Fermentation anaérobie produite par le Bacillus orthobutylicus. (Annales de l'Institut Pasteur. t. VII. 1893. p. 353.)

1) die Vergärung des milchsauren Kalkes zu buttersaurem Kalk.
2) die Vergärung der Kohlehydrate zu Buttersäure; mit Rücksicht auf den Zweck meiner Untersuchung kommt hier namentlich die direkte Vergärung des Milchzuckers in Betracht;
3) die Zersetzung der Eiweißstoffe, bei welcher Buttersäure als Nebenprodukt auftritt.

Der dritte Typus sollte eigentlich als echte Buttersäuregärung nicht aufgefaßt werden. Im wesentlichen wird bei der hier angegebenen Einteilung der Beyerinck'schen[1]) Klassifikation der „Granulobacterarten" Rechnung getragen. Einige vor kurzem gefundene Buttersäurebakterien, wie z. B. die von Kedrowski[2]) beschriebenen, können hier nicht berücksichtigt werden, weil über deren physiologisches Verhalten viel zu wenig bekannt ist.

Der von mir untersuchte Bacillus saccharobutyricus gehört in die zweite Gruppe hinein und ist als echter Buttersäuregärungserreger zu betrachten. Von dem Bacillus butyricus Botkin und dem Bacillus orthobutylicus Gimbert. unterscheidet er sich wesentlich dadurch, daß er keinen Butylalkohol produziert. Von dem Bacillus butyricus Botkin unterscheidet er sich außerdem noch dadurch, daß er keine Milchsäure bildet, die Gelatine nicht verflüssigt und in Milch kultiviert das Kaseïn nicht löst. Auch das Bild der Kolonieen auf Gelatine ist in beiden Fällen verschieden. Am meisten nähert sich der Bacillus saccharobutyricus dem Bacille amylozyme Perdrix. Morphologisch bestehen zwar einige Unterschiede zwischen den beiden Buttersäuregärungserregern, es läßt sich aber ein Vergleich oder eine Identifizierung des B. saccharobutyricus mit den Bacille amylozyme nicht durchführen, weil sowohl der Zweck, als auch die Methoden beider diesbezüglichen Arbeiten von einander verschieden waren.

Im nachfolgenden gebe ich eine übersichtliche Zusammenstellung der wichtigsten Eigenschaften der vier mit einander verwandten Formen:

Bacille amylozyme Perdrix (1891)	Bacillus butyricus Botkin (1892)	Bacillus orthobutylicus Grimbert (1893)	Bacillus saccharobutyricus de Klecki (1895)
0,5 μ breit; 2—3 μ lang	0,5 μ breit; 1—3 μ lang; in Flüssigkeiten bis 10 μ lang	1,5 μ breit; 3—6 μ lang	0,7 μ breit; 5—7 μ lang
Gelatine ungünstiger Nährboden	Runde oder längliche Kolonieen mit schwach wellenförmigem Rande, welche gleichsam aus einer Masse verfilzter Fäden bestehen		Ovale Kolonieen mit scharfem Rande, im Innern granuliert

1) Referat in Koch's Jahresber. über d. Fortschr. in der Lehre von d. Gärungsorganismen. Vierter Jahrgang (1893). p. 259.
2) Zeitschrift f. Hygiene. Bd. XVI. p. 445.

Bacille amylozyme Perdrix (1891)	Bacillus butyricus Botkin (1892)	Bacillus orthobutylicus Grimbert (1893)	Bacillus saccharobutyricus de Klecki (1895)
Nicht verflüssigend	Gelatine verflüssigend; Kaseïn wird gelöst		Gelatine nicht verflüssigend; Kaseïn wird nur wenig angegriffen
Beweglich	Schwache, aber deutliche Bewegung	Beweglich	Schlängelnde Bewegung
Anaërob	Anaërob	Anaërob	Anaërob
Sporenbildend	Sporen in der Mitte des Stäbchens, aber mitunter auch an den Enden. Längliche Form der Sporen	Sporenbildend; 2—3 Sporen in einem Stäbchen	Endständige ovale Sporen
Vergärt: Glukose, Rohrzucker u. Milchzucker, und bildet dabei: Buttersäure, Essigsäure, Kohlensäure, Wasserstoff. Stärke vergärt er zu: Buttersäure, Amylalkohol, etwas Aethylalkohol, Kohlensäure, Wasserstoff	Vergärt: Milch, Traubenzucker, Stärke, und bildet dabei: Buttersäure, Propionsäure, Essigsäure, Ameisensäure, Milchsäure, Bernsteinsäure, Butylalkohol, etwas Aethylalkohol, Kohlensäure und Wasserstoff	Vergärt: Glycerin, Mannit, Glycose, Invertzucker, Rohrzucker, Maltose, Milchzucker, Galaktose, Arabinose, Stärke, Dextrin, Inulin, und bildet dabei: normalen Butylalkohol, etwas Isobutylalkohol, normale Buttersäure, Essigsäure, Ameisensäure, Kohlensäure und Wasserstoff	Vergärt: Milchzucker zu: Buttersäure, Ameisensäure, Kohlensäure, Wasserstoff; neben der Buttersäure wird auch wahrscheinlich eine höhere Fettsäure (Valeriansäure) gebildet.

D. Beziehungen des Bacillus saccharobutyricus zum Reifungs- und Lochungsprozeß des Käses.

Die ziemlich detaillierte Untersuchung der Lebensgeschichte des Bacillus saccharobutyricus und namentlich die Erforschung seines Verhaltens in der Milch, sowie der in derselben hervorgebrachten chemischen Umsetzungen wurde hauptsächlich durch einige Beobachtungen veranlaßt, welche ich an mit diesem Mikroorganismus geimpfter Milch gemacht hatte. Als ich mich nämlich überzeugen wollte, in welcher Weise der aus Quargelkäse kultivierte anaërobe Bacillus, welcher in Gelatine eine starke Gasbildung erzeugte, sich in der Milch verhalten würde, hatte ich zu diesem Zweck einen in der oben beschriebenen Art und Weise eingerichteten Kolben mit Milch voll gefüllt, sterilisiert, gleichzeitig damit die Luft aus dem Kolben entfernt und die Milch mit diesem Bacillus geimpft. Den Kolben stellte ich in den Brutschrank (35° C). In der Nacht begann eine stürmische Gärung und am Morgen des folgenden Tages sah ich einen Sprung im Glase, durch welchen die Milch langsam sickerte. Die Gärung wurde mit der Zeit bedeutend schwächer und, als ich den Kolben, welcher die halbvergorene Milch enthielt, öffnete, beobachtete ich, daß dieselbe einen typischen Geruch nach Quargelkäse zeigte. Die Milch hatte einen noch süßen Geschmack, wirkte

aber in dem Maße adstringierend, daß man noch nach mehreren Stunden nach dem Genusse einiger Tropfen dieser Milch den herben Geschmack derselben spürte. Nachdem die Milch noch einige Tage bei Luftzutritt gestanden hatte, wobei die Gärung allmählich schwächer wurde und schließlich ganz aufhörte, ging der Geruch nach Quargelkäse in einen deutlichen Buttersäuregeruch über. Die in einem offenen Becherglase aufbewahrte halbvergorene Milch, welche einen deutlichen Geruch nach Buttersäure erkennen ließ, hielt sich in diesem Zustande unverändert und ohne zu gerinnen einige Wochen lang, bis sich schließlich darauf eine Schimmelpilzvegetation ansiedelte.

Diese Beobachtung, welche auf den Zusammenhang der im Quargelkäse stattfindenden Buttersäurebildung mit der Thätigkeit des Bacillus saccharobutyricus hinwies, veranlaßte mich, gleichzeitig mit der chemischen und bakteriologischen Untersuchung dieses interessanten Bacillus auch eine Prüfung seines Verhaltens im Käse vorzunehmen.

Zu diesem Zweck wurde abgerahmte Milch mit einer bestimmten Menge (5 oder 25 ccm) unter dem Einflusse des Bacillus saccharobutyricus halbvergorener Milch geimpft. Die zur Impfung dienende Milch wurde bei Luftabschluß aufbewahrt; der die gärende Milch enthaltende Kolben wurde erst unmittelbar vor dem Impfen geöffnet. Aus der mit dem Bacillus saccharobutyricus geimpften Milch wurden nun harte und weiche Labkäse bereitet; gleichzeitig damit wurden zur Kontrolle nicht geimpfte Käse aus derselben Milch hergestellt. Da man bei derartigen Versuchen keine Garantie haben kann, daß die Reifung der auf diese Weise bereiteten Käse nur unter dem Einflusse des eingeimpften Mikroorganismus vor sich geht, so sind aus solchen Versuchen praktische Schlußfolgerungen nur sehr vorsichtig zu ziehen. Absolute Sicherheit könnte man nur dann haben, wenn sich in einer größeren Anzahl von Versuchen die Wirkung der Impfung mit dem betreffenden Mikroorganismus bewähren sollte. Dazu wäre aber eine Versuchskäserei nötig, welche mir leider nicht zur Verfügung stand. Jedenfalls aber sind die von mir an Käsen angestellten Versuche insofern von Bedeutung, als aus denselben sicher gefolgert werden konnte, daß der Bacillus saccharobutyricus die Reifung des Quargelkäses in einer bestimmten Weise beeinflußt. Ob die Reifung des Quargelkäses direkt der vom Bacillus saccharobutyricus eingeleiteten Gärung oder einer Symbiose dieses Spaltpilzes mit anderen Mikroorganismen zuzuschreiben ist, kann jedoch auf Grund der von mir ausgeführten Versuche nicht entschieden werden; es wäre auch möglich, daß die durch den Bacillus saccharobutyricus verursachten chemischen Umsetzungen den Käse in solcher Weise verändern, daß alsdann der normale Reifungsprozeß des Quargelkäses unter dem Einflusse anderer Mikroorganismen leichter und rascher verlaufen kann.

Versuch I. Weichkäse bereitet aus Magermilch.

Am 24. April 1895 wurden 2 Käse (I und II) aus je zwei Litern Magermilch bereitet. Die zur Bereitung des Käse I verwandte Milch wurde unmittelbar vor dem Laben mit 20 ccm unter dem Einflusse

des Bacillus saccharobutyricus halbvergorener Milch infiziert; der Käse II (nicht geimpft) diente als Kontrollkäse. Beide Käse wurden in sonst vollkommen gleicher Weise bereitet und behandelt. Nachdem die Käse aus der Presse gekommen waren, sah man, daß der Verlauf der Reifung in den beiden Käsen verschieden war. Der Einfluß der Impfung äußerte sich nach sehr kurzer Zeit in äußerst auffallender Weise.

Am 5. Mai 1895: Käse I zeigte beginnende Reifung; seine Farbe war gelb, der Geruch war der eines in der Reifung schon weit vorgeschrittenen Käses. Käse II stellte eine noch ganz frische Quarkmasse dar; Farbe weiß, Geruch nach frischem Quark.

Am 24. Mai 1895: Käse I in der ganzen Masse vollkommen reif, Geschmack eines guten Quargelkäses, weiche Konsistenz, gute Lochung. Käse II: beginnende Reifung von Außen nach Innen, Geschmack noch an frischen Quark erinnernd, gelblich-weiße Färbung, keine Lochung.

Versuch II. 2 Weichkäse und 2 Hartkäse aus pasteurisierter Magermilch.

Die zur Darstellung der Versuchskäse verwandte Magermilch wurde über 1 Stunde lang auf 65—69 ° C erhitzt. Aus je 4,5 l dieser Milch wurden am 14. Juli zwei Hartkäse (III und IV), aus je 3 l derselben Milch zwei Weichkäse (V und VI) bereitet. Außerdem wurde aus derselben Milch ein harter Kontrollkäse (VII) bereitet. Die Labmenge war bei den Hartkäsen entsprechend größer als bei den Weichkäsen. Außerdem wurde bei der Bereitung der Hartkäse auf eine möglichst sorgfältige Zerkleinerung des Bruches Acht gegeben. Die Labtemperatur betrug für Weichkäse 20—25 °, für Hartkäse 35 ° C. Die zur Bereitung der Käse III und V benutzte Milch wurde mit 25 ccm Milchkultur des Bacillus saccharobutyricus infiziert; die zur Bereitung der Käse IV und VI angewandte Milch wurde mit 5 ccm derselben Milchkultur versetzt.

Infolge der hohen Temperatur, die während der Bereitung und der Aufbewahrung der Versuchskäse herrschte, und wegen des Mangels an einem entsprechenden Käsekeller sind die Käse nicht gut gelungen. Alle Käse (den Kontrollkäse nicht ausgenommen) waren sehr stark gebläht. Trotzdem konnte deutlich der Unterschied zwischen den geimpften und nicht geimpften Käsen wahrgenommen werden: Während der nicht geimpfte Käse sehr langsam reifte und sein Geschmack ganz fade war, besaßen die aus der mit dem Bacillus saccharobutyricus geimpften Milch hergestellten Käse einen eigentümlichen etwas bitteren Geschmack und reiften auch bedeutend rascher als der Kontrollkäse.

Aus diesem Versuch konnten jedoch keine weiteren Schlußfolgerungen gezogen werden, da, wie gesagt, die Käse abnormale Eigenschaften zeigten, welche vor allem mit der zur Zeit der Versuchsanstellung herrschenden Hitze, möglicherweise aber auch mit dem Pasteurisieren der Milch im Zusammenhange standen.

Versuch III. Hartkäse aus pasteurisierter Magermilch (nachgewärmt).

Derselbe wurde am 15. Juli aus 5 l Magermilch hergestellt, welche mit 25 ccm einer Kultur des Bacillus saccharobutyricus in Milch infiziert worden war. Im Vergleich mit einem gleichzeitig damit aus derselben Milch hergestellten Kontrollkäse war dieser Käse dadurch ausgezeichnet, daß er bedeutend rascher als der Kontrollkäse reifte und einen pikanten, etwas bitteren Geschmack aufwies, während der Kontrollkäse im Geschmack fade war. Beide Käse waren jedoch stark gebläht.

Versuch IV. Zwei Hartkäse aus nicht pasteurisierter Magermilch.

Dieselben wurden am 19. Juli aus je 2 l nicht pasteurisierter Magermilch hergestellt, welche mit 25 ccm einer Milchkultur des Bacillus saccharobutyricus infiziert worden war. Gleichzeitig damit wurden aus derselben nicht pasteurisierten Milch in genau derselben Weise zwei Kontrollkäse bereitet.

An diesen Käsen konnte man ebenso sicher und prägnant wie beim Versuche I den auffallenden Einfluß der Impfung mit dem Bacillus saccharobutyricus beobachten. Alle die vier Käse waren vollkommen normal. Nach einigen Wochen besaßen die zwei Kontrollkäse den Geschmack von Quark, weiße Farbe, waren nicht gelocht und zeigten erst den Anfang einer Reifung, während die beiden geimpften Käse einen saftigen, an Quargelkäse erinnernden Geschmack, gelbe Farbe und sogar die den Quargelkäsen eigentümliche rötliche Rinde aufwiesen und in der Reifung weit vorgeschritten waren. Die geimpften zwei Käse waren außerdem im Gegensatz zu den zwei nicht geimpften gelocht.

Bei der Betrachtung der Resultate der an Versuchskäsen angestellten Beobachtungen fällt sofort in die Augen, daß der charakteristische Geschmack des Quargelkäses nur in den aus nicht pasteurisierter Milch bereiteten mit Bacillus saccharobutyricus geimpften Käsen auftrat. Diese Thatsache scheint darauf hinzuweisen, daß möglicherweise der Bacillus saccharobutyricus allein die Reifung des Quargelkäses nicht bedingt, sondern daß er dies vielmehr in Symbiose mit anderen Mikroorganismen thut, welche durch das Pasteurisieren abgetötet werden. Alle aus pasteurisierter Milch hergestellten Käse waren stark gebläht. Durch das Pasteurisieren werden zwar viele Keime abgetötet; gleichzeitig wird aber dadurch auch die Entwickelung sporenhaltiger und deshalb auch widerstandsfähiger Gärungserreger begünstigt, welche alsdann im Käse als Blähungserreger wirken. Die Wahrscheinlichkeit von Käseblähungen ist demnach, namentlich bei hoher Temperatur des Reifungsraumes, viel größer bei Verarbeitung von pasteurisierter als von nicht pasteurisierter Milch, falls die Milch mit solchen Dauerformen bildenden Blähungserregern behaftet ist. Andererseits ist aber der Einfluß des Bacillus saccharobutyricus auf die Beschleunigung der Reifung, die Bildung gewisser Geschmacksstoffe und die Lochung des Käses nicht zu leugnen, sobald man die Unterschiede im Verlaufe

der Reifung der mit dem Bacillus saccharobutyricus geimpften und der Kontrollkäse ins Auge faßt und berücksichtigt, daß nur die mit dem Bacillus saccharobutyricus geimpften Käse den charakteristischen Geruch und Geschmack des Quargelkäses zeigten.

In dem Bacillus saccharobutyricus haben wir es somit mit einem Mikroorganismus zu thun, welcher jedenfalls entschieden die Reifung und den Geschmack des Quargelkäses beeinflußt, diesen Einfluß jedoch wahrscheinlich nur in Symbiose (oder, vorsichtiger ausgedrückt, bei gleichzeitiger Gegenwart) mit anderen Bakterien ausübt.

Kurz die Resultate meiner Arbeit zusammenfassend, glaube ich behaupten zu können, daß an der normalen Reifung und Lochung des Quargelkäses, sowie namentlich an der im Quargelkäse auftretenden Buttersäurebildung solche Mikroorganismen wesentlich beteiligt sind, welche den Milchzucker direkt zu Buttersäure zu vergären vermögen. Ich bin weit entfernt davon zu glauben, daß der Bacillus saccharobutyricus mit allen seinen speziellen morphologischen und physiologischen Eigenschaften die einzige Form ist, welcher diese Wirkung zukommt. Ich betrachte ihn in dieser Beziehung bloß als einen Typus, und es ist wahrscheinlich, daß einer ganzen Reihe ähnlicher Bacillen eine ähnliche Rolle zukommt. Den Typus, zu welchem der Bacillus saccharobutyricus zu rechnen ist, glaube ich aber durch die vorliegende Untersuchung genügend charakterisiert zu haben. Der Bacillus saccharobutyricus ist, wie aus den oben geschilderten Untersuchungen sich ergiebt, ein anaërober Bacillus, welcher in der Milch eine lebhafte Gärung veranlaßt und dabei auf Kosten des Milchzuckers Ameisensäure, Buttersäure und daneben eine höhere Fettsäure (Valeriansäure), ferner geringe Mengen Alkohol, Kohlensäure, Wasserstoff und vielleicht auch geringe Mengen Methan erzeugt. Bei der durch diesen Bacillus eingeleiteten Gärung wird keine Milchsäure gebildet. Die Gärung trägt auch durchaus nicht den Charakter eines Fäulnisprozesses (Ammoniak, Indol, Skatol, Phenol etc. werden nicht gebildet).

Die Eiweißstoffe der Milch unterstützen die Lebensthätigkeit dieses Mikroorganismus und werden dementsprechend in geringem Maße von demselben verarbeitet; eine erhebliche Eiweißzersetzung findet aber dabei nicht statt.

Für weitere Fortschritte unserer Kenntnisse über den Käsereifungsprozeß scheint mir ein genaues mikrobiologisches Studium anderer Typen von Bakterien in der in dieser Arbeit vorgezeichneten Weise wünschenswert zu sein.

Zum Schluß sei es mir gestattet, dem Direktor des Instituts für Molkereiwesen an der k. k. Jagellonischen Universität in Krakau, Herrn Prof. Dr. Adametz, dessen Assistent zu sein ich die Ehre habe, für das lebhafte Interesse, welches er meiner Arbeit geschenkt hat, sowie für die schätzbaren Ratschläge, die ich ihm verdanke, meinen tiefempfundenen Dank auszudrücken.

Die Gasanalysen habe ich im agrikulturchemischen Laboratorium der Krakauer Universität ausgeführt. Herrn Prof. Dr. Godlewski, Direktor des agrikulturchemischen Instituts, sowie Herrn Privatdozenten Dr. Jentys, Assistenten daselbst, bin ich für ihre liebenswürdige Unterstützung mit Rat und That zu verbindlichstem Danke verpflichtet. Desgleichen sage ich Herrn Dr. Wróblewski, Assistenten der chemischen Abteilung des Krakauer physiologischen Instituts, für die Ratschläge, die er mir bei der Ausführung des chemischen Teiles der vorliegenden Untersuchung erteilt hat, meinen aufrichtigen Dank.

Zusammenfassende Uebersichten.

Die Pilzkrankheiten der Kartoffelpflanze.

Zusammenfassende Uebersicht der innerhalb der letzten drei Jahre erschienenen Litteratur.

Von

Dr. C. Wehmer

in

Hannover.

(Schluß.)

7) Bakterienkrankheiten („Naßfäule", Bacteriosis).

Ueber die Natur der sogen. „Naßfäule" als einer durch Spaltpilze bewirkten Fäulniserscheinung des Knollengewebes ist im allgemeinen kein Zweifel, wenngleich prinzipielle Unterschiede in den Ansichten bezüglich der Rolle, welche diese Bakterien spielen, bestehen. Die einen messen ihnen bekanntlich nur sekundäre Bedeutung bei, indem sie die eigentliche Ursache des Absterbens in anderweitigen Umständen suchen [Böhm (4) machte hierfür die wohl noch anzuzweifelnde gehinderte Atmung verantwortlich, nach Frank (16) u. A. ist das Eindringen von Phytophthora anstoßgebend], während andere wieder die Summe der die Knolle befallenden Zersetzungsprozesse (also auch die sogen. „Trockenfäule") auf die Initiative von parasitischen Spaltpilzen zurückführen [Reinke u. Berthold (40), Sorauer (56)]. Die Wahrheit liegt auch hier wohl wieder in der Mitte. Es ist also weder ausgemacht, daß Bakterienfäule nun ausschließlich das durch andere Momente benachteiligte resp. krankhaft beeinflußte oder abgetötete Gewebe befällt, noch daß alle späteren bakteriellen Zersetzungsprozesse ursprünglich primärer Art sind, vielmehr kann beides möglich sein. Hier spielen wohl die Umstände sowie die spezifische Natur des Spaltpilzes eine Rolle und die „typische" Naßfäule dürfte wohl in der einen wie der anderen Weise zustande kommen können, ohne daß sie überdies gerade an die Gegenwart einer einzigen

Bakterienart gebunden ist. Ebenso wie anderweitig abgetötetes wasserhaltiges Gewebe der Kartoffel der Bakterienfäule unterliegt, kann diese gelegentlich also auch gesunde Knollen vernichten und beide Male resultiert die „Naßfäule“ des Praktikers.

Seit der 1891 publizierten Arbeit Cramer's (11) sind spezielle Untersuchungen nach dieser Richtung nicht ausgeführt; derselbe hatte aus naßfaulen Kartoffeln einen infektionstüchtigen Bacillus isoliert, welcher mit dem von anderen dafür verantwortlich gemachten Buttersäurebacillus nicht identisch war, im übrigen aber gleichfalls Buttersäure bildete. In sogen. „trockenfaulen“ Kartoffeln findet man übrigens, wie hier hinzugefügt werden mag, nur unter ganz bestimmten Umständen Spaltpilze, so daß die Erscheinung der eigentlichen „Trockenfäule“ überhaupt nicht unter die durch diese veranlaßten Krankheiten fällt, vielmehr durchweg eine reine Pilzfäule ist (s. unten), welche überdies keineswegs nun gerade notwendig speziell durch Phytophthora veranlaßt werden muß.

Verjauchen des Knolleninhaltes ist eine allgemein bekannte Erscheinung, die bei einer gewissen Zahl von Exemplaren wohl jährlich überall zu beobachten ist. Als epidemisch auftretend wurde eine derartige Erscheinung (bei gleichzeitigem Vertrocknen des Laubes) von Tryon (68) kürzlich aus Australien berichtet, die nach demselben durch Bakterien veranlaßt wurde. Das gleiche wurde aus Nordamerika von Halsted (24) angegeben und soll es sich hier thatsächlich um Erkrankungen leicht übertragbaren Charakters handeln. Inwieweit freilich andere Umstände noch hinzukommen, ist wohl kaum ohne weiteres anzugeben, und so läßt auch Rostrup (47) einen von ihm in Dänemark beobachteten ähnlichen Fall der Zersetzung äußerlich unveränderter Knollen von „Magnum bonum“ h nsichtlich seiner eigentlichen Ursache unentschieden.

Der Vollständigkeit halber sei hier noch der angeblich eine Stengelkrankheit der Kartoffel veranlassende „Bacillus caulivorus“ von Prillieux und Delacroix (39) erwähnt, nach denen übrigens braune Faulflecke an Kartoffeläpfeln gleichfalls durch einen, die Zellen mit Zooglöenbildung anfüllenden parasitischen Bacillus hervorgerufen werden sollen, nachdem derselbe bereits sehr frühzeitig in das Organ eingedrungen ist.

Der Fall, wo Spaltpilze als Ursache der Schorfkrankheit angegeben werden, ist bei Erwähnung dieser aufgeführt.

Es bedarf endlich kaum der Bemerkung, daß die oben erwähnte Böhm'sche Ansicht einstweilen wohl kaum Bedeutung hat. Wenn derselbe sagt, daß die „wahre“ Naßfäule eine Folge von Erstickung (Lenticellenverschluß, als dessen Folge Tod und Zersetzung des toten Gewebes durch Spaltpilze eintritt) ist, so bleibt das Zutreffen dieser zunächst rein theoretischen Ansicht für praktische Fälle noch zu zeigen, wenn im übrigen ja auch niemand daran zweifelt, daß eine durch längeren Sauerstoffabschluß getötete Knolle verfault. Warum das aber gerade die „wahre“ Naßfäule sein muß, dürfte schwer zu sehen sein. Nach dem, was der Autor speziell über die „Trockenfäule“ sagt, können seine Beobachtungen kaum als überall ganz zuverlässig angesehen werden. Andererseits sind aber solche Fälle

wo einer allzusehr umsichgreifenden Ueberschätzung der Bakterien als Krankheitserreger nicht das Wort geredet wird, mit Genugthuung zu registrieren.

8) „Trockenfäule".
(Fusariumkrankheit „Schimmelkrankheit").

Die im Vorhergehenden wiederholt erwähnte „Trockenfäule" der Knollen (72), also jene bei den winterüber im Keller aufbewahrten Kartoffeln sehr allgemein auftretende, durch Schrumpfen und Hervorbrechen meist hellgefärbter Pilzpolster charakterisierte Erscheinung, wird vorzugsweise durch Fusarium Solani Sacc. (= Fusisporium Solani Mart.) (nach Angabe Konidienform von Hypomyces Solani Rncke. und Berth.) veranlaßt. Sie ist also sowohl von der Phytophthora- wie von der Spaltpilzfäule zu trennen, geht nicht selten jedoch späterhin in letztere über. Möglicherweise kann sie auch noch durch andere Pilze veranlaßt werden.

Bislang war man der Ansicht, daß Fusarium (und Spicaria), deren regelmäßiges Auftreten auf derartigen Knollen seit lange bekannt ist, nur sekundärer Charakter (als Bewohner des toten Gewebes) beizumessen sei und diese Frage ist selbst wiederholt experimentell geprüft worden (de Bary, Reinke und Berthold, Sorauer). Ueber den Ausfall der künstlichen Infektion entscheiden jedoch die Umstände und unter entsprechenden Verhältnissen gelingt dieselbe mit Leichtigkeit [1]).

Ueberdies lehrt die genauere Untersuchung partiell oder total trockenfauler Knollen, daß Spaltpilze nur unter ganz bestimmten Verhältnissen, und zwar dann, wenn bereits eine durch reichliche Feuchtigkeit begünstigte Weiterzersetzung des abgetöteten Gewebes (Fäulnis) stattgefunden, vorhanden sind. Sie kommen in diesem Falle also erst sekundär hinzu und vollenden den Zersetzungsprozeß; ebenso ist kein Mycel der Phytophthora nachzuweisen. Mikroskopische wie kulturelle Untersuchung des Knolleninhaltes ergab bei noch nicht in „Fäulnis" übergegangenen sogenannten „trockenfaulen" Exemplaren ausschließlich Mycomyceten-Hyphen und -Vegetationen, so daß die „Trockenfäule" als ein durch Hyphomyceten bewirkter Knollenzerfall von der Naßfäule als einem durch Bakterien (primär) eingeleiteten oder (sekundär) weitergeführten wirklichen „Fäulnisprozeß (im engeren Sinne) scharf zu sondern ist. Braunfärbung des Gewebes unter alsbaldiger völliger Auflösung aller Zellwände bei gänzlichem Intaktbleiben der Stärkekörner ist für jene charakteristisch, wobei die absterbende Masse zunächst locker-bröcklige, später aber wieder derbe und auch hellere Beschaffenheit annimmt. Das Endstadium ist eine kompakte, fast ausschließlich aus Stärkekörnern zusammengesetzte, peripher von der welken Pilzpolster-besetzten Korkschale umhüllte graue Masse.

---

1) Zu den gleichen Resultaten ist übrigens kürzlich auch Pizzigoni (36 a) gekommen (nach „Hedwigia". 1896. Heft 1. p. 24 des Repertor.) (Anm. b. d. Korrekt.)

9) Sonstige Krankheiten.

Von Heinricher (22) wurde bei Gelegenheit einer Mitteilung über reichliches Auftreten von Krystalloiden in Kartoffelsprossen erwähnt, daß die bezüglichen Pflanzen einer die Stengelbasis und das Wurzelsystem ergreifenden Krankheit erlagen, welche als „Wurzelfäule" bezeichnet wird. Knollen waren kaum gebildet, das Wurzelsystem war im Verfaulen begriffen, die Blätter waren welk; wo die Fäule die unteren Stengelteile ergriffen, neigten die Pflanzen zum Umfallen. Der Autor läßt die Erscheinung von den Wurzeln ausgehen und sucht die Ursache in Sauerstoffmangel (veranlaßt durch sehr feuchten Boden), da bestimmte Pilze nicht zu finden waren. Soweit sich das aus der mehr beiläufigen Mitteilung ersehen läßt, dürfte es sich vielleicht um eine durch Sclerotinia sclerotiorum oder Botrytis cinerea eingeleitete Stengelfäule handeln, aus dem fertig vorliegenden Thatbestande einen Rückschluß auf die Ursache zu ziehen, erscheint jedoch mißlich.

Eine sehr ähnliche Erkrankung wurde neuerdings von Fautrey (14) mitgeteilt, die der Autor übrigens als neu ansieht und durch einen besonderen Pilz (Entorrhiza Solani nov. spec.) hervorrufen läßt. Die Symptome gleichen ganz den oben beschriebenen, so daß die Pflanzen also unter Fäulniserscheinungen am Wurzelhals welken und eingehen, wobei es weder zu einer Blüten- noch Knollenbildung kommt.

Mitteilungen über anderweitige Erkrankungen sind in den letzten Jahren nicht gemacht worden [1]; das Auftreten des Pockenerregers (Rhizoctonia Solani Kühn) auf kranken Knollen war wenigstens nach Sorauer (54) nur sekundär und zwar bei Gelegenheit der schwarzen Trockenfäule.

Hannover, im März 1896.

Litteratur [2].

1) Beach, S., Treatment of potato scab. (New York Agricultur. Experim. Stat. Bull. No. 49. 1893.)
2) Blair, W., Bordeaux mixture for the prevention of potato rot. (Canada Expl. Farms. 1893. p. 222.)
3) Blandfort, Prevention of potato scab. (Garden. Chron. 1892. p. 536.)
4) Böhm, J., Ueber die Kartoffelkrankheit. (Sitzungsber. d. k. k. zoolog.-botan. Gesellsch. zu Wien 1892. — Botan. Centralbl. 1892. II. Quart. p. 170.)
5) Bolley, Potato scab, a bacterial disease. (The Agricult. Science. IV. 1890. p. 243.)
6) — —, Treatment of wheat smut and potato scab. (North Dakota Stat. Bull. XIX. p. 125.)
7) — —, Prevention of potato scab. (Governm. Agricult. Experim. Stat. f. North Dakota. Bull. 9. 1893.)

1) Hierzu kommt jedoch noch die soeben von Sorauer (55) beschriebene „Dürrfleckenkrankheit" durch Alternaria Solani Sor. Ebenso erwähnt Schilberszky in einer „vorläufigen Mitteilung" (Ber. Bot. Ges. 1896. p. 36) einen angeblich neuen Myxomyceten als Schorferreger, über den zunächst Genaueres abzuwarten ist. (Anm. b. d. Korrekt.)

2) Die laufende Nummer der alphabetisch geordneten Uebersicht entspricht den eingestreuten Zahlen des vorhergehenden Textes. Die Citate, soweit sie schwerer zugängliche Arbeiten betreffen, nach anderweitigen Quellen (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh., Hedwigia, Centralbl. f. Bakt. II. Abt., Botan. Centralbl.).

8) Brown, Prevention of potato disease. (Garden. Chron. 1892. p. 731.)
9) Cimbal, Ueber den Abbau der Kartoffel und seine Ursachen, sowie seine Beziehungen zur Kartoffelkrankheit. (Illustr. landw. Ztg. 1896. p. 35.)
10) Copper-sulphate and potatoes. (Garden. Chron. III. 1894. p. 697.)
11) Cramer, Bakteriologische Untersuchungen über die Naßfäule der Kartoffelknollen. (Oesterr. landw. Centralbl. 1891. p. 11.)
12) Dodge, J., Report on the crops of the year. (Unit. St. Departm. of Agricult. Division of Statistics. 1893.)
13) Fairchild, Bordeaux mixture as a fungicide. (U. St. Departm. of Agricult. Divis. of Vegetable Pathology. Bull. No. 6. Washington 1894. p. 1.)
14) Fautrey, Une nouvelle maladie du Solanum tuberosum. Entorrhiza Solani. (Revue mycolog. 1896. p. 11.)
15) Fletcher, Early Potato blight. (Central-Experiment.-Farm. Canada. Bull. No. 23. 1895).
16) Frank, Krankheiten der Pflanzen. 2. Aufl. Breslau 1895.
17) Frank und Krüger, Ueber den Reiz, welchen die Behandlung mit Kupfer auf die Kartoffelpflanze ausübt. Vorl. Mitteil. (Ber. Bot. Ges. 1894. p. 8.)
18) Galloway, Diseases of potatoes in the United States. (Farmers Bullet. Washington 1894.)
19) — —, Some destructive potato diseases. (Farmers Bullet. No. 13. Washington 1894.)
20) Girard, Recherches sur l'adhérence aux feuilles des plantes et notament aux feuilles de la pomme de terre, des composés cuivriques destinés à combattre leurs maladies. (Compt. rend. 1892. p. 234.)
21) Grosjean, Notes sur le Macrosporium de la pomme de terre aux Etats Unis. (Bull. du Ministère de l'Agriculture. 1895.)
22) Heinricher, Ueber massenhaftes Auftreten von Kristalloiden in Laubtrieben der Kartoffelpflanze. (Ber. Bot. Ges. Bd. IX. p. 287.)
23) Hollrung, IV. Jahresbericht der Versuchsstation für Nematodenvertilgung und Pflanzenschutz zu Halle a. S. 1892.
24) Halsted, Report of the Botanical Departm. of the New Yersey Agricult. College Experim. Stat.
25) Hunteman, Eine neue Kartoffelkrankheit. (Dtsch. landw. Presse. 1893. p. 737).
26) Hunn, C., Use of Bordeaux mixture for potato blight. (New York Agricult. Experim. Stat. Bullet. No. 49. 1893.)
27) Kirchner, O., Krankheiten und Beschädigungen unserer landwirtschaftl. Kulturpflanzen. Stuttgart 1890.
28) — —, Die Stengelfäule, eine neu auftretende Krankheit der Kartoffeln. (Württemb. Wochenbl. f. Landwirtsch. 1893. No. 34.)
29) de Lagerheim, Remarks on the Fungus of a potato scab, Spongospora Solani. (Journ. of Mycolog. 1892. p. 103.)
30) Leydhecker, A., Die Bekämpfung der Kartoffelkrankheit durch die Verwendung von Kupfervitriol. (Oesterr. landw. Wochenbl. 1893. p. 163.)
31) Liebscher, Versuche über die Bekämpfung der Kartoffelkrankheit. (Journ. f. Landwirtsch. 1892. p. 290.)
32) Lopriore, Studi circa la malatti: Schorf della potate etc. (Bollet. d. Notizie agrar. 1893. p. 488.)
33) Lodemann, E., The preparation of Bordeaux mixture. (Garden and Forest. 1895. p. 159.)
34) Masters, M., The prevention of potato disease. (Garden. Chron. 1892. p. 158 u. 378.)
35) Montarini, Alcune experienze antiperonosporiche sulle potate in Provincia di Caserta nel 1894. (Le Stazioni sperimentali agrar. ital. 1894. p. 251.)
36) Otto, R., Untersuchungen über das Verhalten der Pflanzenwurzeln gegen Kupfersalzlösungen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1893. Heft 6.)
36a) Pizzigoni, Cancrema secca ed umida delle Patate. (Nuov. Giorn. Botan. Ital. 1896. p. 50.)
37) Potato scab and its prevention. (Jowa Agricult. College Experim. Stat. Bull. 26. p. 120.)
38) Potato disease. (Garden. Chron. III. 1894. p. 132.)
39) Prillieux et Delacroix, Maladies bacillaires de divers vegetaux. (Compt. rend. 1894. p. 669.)

40) Reinke und Berthold, Die Zersetzung der Kartoffel durch Pilze. Berlin 1879.
41) V. Ann. Report of the Agricult. Experim. Stat. of Rhodes Island.
42) Report on recent experiments in checking potato disease in the United Kingd. and abroad. (Board of agricult. London 1892.)
43) Ritzema-Bos, Mitteilungen über Pflanzenkrankheiten und Beschädigungen in den Niederlanden. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1894. p. 145. 1895. p. 289.)
44) Rumm, Zur Kenntnis der Wirkung der Bordeauxbrühe etc. (Fünfstück's Beiträge zur wissenschaftl. Botanik. I. 1895. 1. p. 81.)
45) — —, Wirkung der Kupferpräparate bei Bekämpfung der Blattfallkrankheit etc. (Ber. Botan. Ges. 1893. p. 79 u. 445.)
46) — —, Zur Kenntnis der Giftwirkung der Bordeauxbrühe. (Ber. Botan. Ges. 1895. p. 188.)
47) Rostrup, Oversigt over de i 1892 indlöbne Forespörgsler angaaende Sygdomme hos Kulturplanter etc. (Tidsskrift for Landökonomi. Kjöbenhagen 1893.)
48) Schacht, Die Kartoffelpflanze und deren Krankheiten. (Bericht. Berlin 1855. p. 24.)
49) Sempolowski, Zur Bekämpfung der Kartoffelkrankheit. (Dtsche landw. Presse. 1895. p. 51. — Fühling's landw. Ztg. 1894. p. 323.)
50) — —, Beitrag zur Bekämpfung der Kartoffelkrankheit. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1894. p. 203 u. 323.)
51) Schoyen, Beretning om Skade insekter og Plantesygdome i 1893. Christiania 1894.
52) Sheppard, Potato disease and sorts of potatoes. (Garden. Chron. 1892. p. 189.)
53) Sorauer, Notizen über die in den letzten Jahren aufgetretenen Krankheitserscheinungen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1895. p. 97 u. 100.)
54) — —, Schwarze Trockenfäule der Kartoffeln. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1894. p. 126. 1895. p. 98.)
55) — —, Auftreten einer dem amerik. „Early blight“ entsprechenden Krankheit a. d. deutschen Kartoffeln. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1896. p. 1.)
56) — —, Handbuch der Pflanzenkrankheiten. 2 Aufl. Berlin 1886.
57) — —, Ein Versuch über die Erblichkeit der schwarzen Trockenfäule bei Kartoffeln. (Dtsche Landwirtschaftsztg. 1895. p. 73.)
58) — —, Einige Beobachtungen bei der Anwendung von Kupfermitteln gegen die Kartoffelkrankheit. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1892. p. 32.)
59) Steglich, Die Bekämpfung der Kartoffelkrankheit. (Sächs. landw. Ztg. 1892. p. 71.)
60) Sturgis, Report of the Mycologist. (The Connectic. Agricult. Experim. Stat. Report for 1892. New Haven 1893.)
61) — —, Notes on the Early Blight of potatoes. (18. Ann. Rep. of the Connectic. Agric. Experim. Stat. for 1894. New Haven 1895. p. 127.)
62) — —, Experiments on the prevention of potato scab. (18. Ann. Rep. of the Connectic. Agricult. Stat. for 1894. New Haven 1895. p. 118.)
63) — —, Report of the Mycologist. (The Connectic. Agricult. Experim. Stat. Report for 1893.)
64) Swingle, An improved method of making Bordeaux mixture. (Journ. of Mycolog. 1894. p. 360.)
65) Taft, The prevention of potato scab. (Mich. Press Bullet. p. 4.)
66) Taft and Coryell, Leaf blight of potato. (Michigan Stat. Bull. 1895. No. 108. p. 47.)
67) Thaxter, The potato scab. (Ann. Report Connectic. Experim. Stat. 1890 and 91.)
68) Tryon, Virulent potato disease. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1894.)
69) Tschirch, Das Kupfer vom Standpunkt der gerichtlichen Chemie, Toxikologie und Hygiene. Stuttgart 1893.
70) Tubeuf, Pflanzenkrankheiten durch kryptogame Parasiten. Berlin 1895.
71) Versuche zur Bekämpfung der Kartoffelkrankheit mit Bordeaux-Brühe. (Dtsche landw. Presse. 1894. — Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1895.)
72) Wehmer, C., Ueber die Ursache der sogen. „Trockenfäule“ der Kartoffelknollen. (Ber. Bot. Ges. 1896. p. 101.)
73) Wheeler, Tovar and Tucker, Further observation upon the effect of sol conditions upon de development of the potato scab. (Rhode Island Stat. Bullet. Vol. XXX. 1895. p. 66.)

Original-Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

Aus der vom k. b. Staate subv. Versuchsstation für Bierbrauerei zu Nürnberg.

Studien über die Abstammung der Saccharomyceten.

Vorläufige Mitteilung.

Von

O. Seiter.

Die sehr wichtige Frage nach dem Ursprung der Saccharomyceten, ob dieselben eine eigene Gattung für sich bilden, oder nur als Entwickelungsglieder höherer Pilze anzusehen sind, hat sich schon seit dem ersten Bekanntwerden der Sprossungsvegetation dieser Pilze zu einem Streitpunkte gestaltet. Trotz der früher vielleicht mehr berechtigten letzteren Annahme, wurde aber schon damals diese Mutmaßung öfter zurückgewiesen und war es besonders Professor Reeß, auf dessen Anregung ich auch die kritische Behandlung dieser Frage als Promotionsarbeit wieder aufgenommen habe, welcher in seiner 1870 erschienenen ausführlichen Arbeit[1]) diesem Thema ein entscheidendes Kapitel widmete. Seit jener Zeit war dann die Frage nach der Abstammung der Saccharomyceten für kurze Dauer mehr oder weniger erledigt, bis dieselbe vor einigen Jahren durch Dr. Takamine's Patente und die sich daran knüpfenden reklameartigen Publikationen, worin nicht nur die Umbildung des Aspergillus Oryzae, sondern auch diejenige von anderen Schimmelpilzen in Hefeform vorgegeben wurde, im alten Sinne wieder an die Tagesordnung kam.

Eine mit der Bestätigung Jörgensen's versehene Abhandlung Juhler's[2]), nach welcher die Konidien des Aspergillus Oryzae wirklich in einen charakteristischen Saccharomyceten übergeführt worden wären, sollte obige Behauptung unterstützen, während Jörgensen selbst, hierdurch angeregt, die Stammform der Weinhefe unter den jetzt lebenden Schimmelpilzen suchte und auch gefunden haben will. Als weitere diesbezügliche Veröffentlichungen reihen sich noch diejenigen von Dr. Eckenroth-Heimann und Sorel hier an.

Der Erste, welcher sich mit den Ansichten Takamine's, Juhler's und Jörgensen's über Aspergillus Oryzae nicht einverstanden erklärte, war Professor E. Chr. Hansen[3]). Er ist der Ansicht, daß nur dann ein Beweis für die Abstammung der Saccharomyceten von den Schimmelpilzen erbracht sei, wenn auch aus

1) Botanische Untersuchungen über die Alkoholgärungspilze. IV. p. 44—69.

2) Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. 2. Abt. Bd. I. 1895. No. 1. p. 16 und No. 9/10. p. 326.

3) Centralbl. 1895. No. 2. p. 65—67.

echten Saccharomyceten Aspergillen zur Entwickelung gebracht werden könnten. Dr. C. Wehmer bezweifelt in seinen beiden Arbeiten über Aspergillus Oryzae und die Sakébrauerei [1]) ebenfalls diese Umbildung. Ihm folgten Kosai und Yabe, welche die Behauptung aufstellten, daß die bei der Sakégärung anwesenden Hefen mit dem Schimmelpilze nichts zu thun hätten [2]). Speziell und eingehender haben sich aber Klöcker und Schiönning, Assistenten am Carlsberger Laboratorium, mit der vermeintlichen Umbildung des Aspergillus beschäftigt und sind ebenfalls zu negativen Resultaten gekommen [3]). Mit gleichem Erfolge wurde über den Reispilz noch an der pflanzenphysiologischen Versuchsstation zu Geisenheim, laut brieflicher Mitteilung von dort, gearbeitet.

Durch meine die Abstammungsfrage behandelnden Studien hatte ich mich gleichfalls mit Aspergillus Oryzae zu befassen und habe ich nicht nur die von Kosai und Yabe, sondern auch die von Klöcker und Schiönning angegebenen Versuche nochmals genau durchgeführt. Als Material benutzte ich einerseits den von Professor Hansen dem Prior'schen Institute zur Verfügung gestellten Aspergillus Oryzae von Kellner und Takamine, andererseits Koji und Tane-Koji von Schimoyame aus Japan, welchen Professor Wortmann von Geisenheim Herrn Professor Reeß in Erlangen übersandt hatte. Brachte ich nun Koji oder Tane-Koji, wie ich beide erhalten hatte, in ein Kölbchen mit steriler, gehopfter Würze, so entstand auf der Oberfläche alsbald das Mycel des Apergillus Oryzae. Dasselbe wurde aber durch die darunter vor sich gehende Gärung jedesmal blasig stark aufgetrieben, weil auf diesen Reispräparaten immer Hefen vorhanden sind. Eine mikroskopische Untersuchung der Würze zeigte nicht nur Hefezellen aus der Gruppe Sacch. cerevisiae und ellipsoideus, sondern auch massenhaft Bakterien.

Beim Plattengießen des mit sterilem Wasser abgespülten Koji erhielt ich später nicht nur Hefen- und Aspergilluskolonieen, sondern auch noch andere Organismen. Wurde ferner Koji auf sterilem, gedämpftem Reis ausgesäet, so wurde derselbe bald mehr oder weniger durch die diastatische Wirkung des Aspergillus verflüssigt und in der Verflüssigung konnten stets helle, ovale, untergetauchte Konidien des Pilzes neben Hefenzellen entdeckt werden, doch war niemals irgend welche Zusammengehörigkeit beider festzustellen. Eine Platinöse voll hiervon in sterile Würze gebracht, bewirkte natürlich dieselbe blasige Auftreibung des an der Oberfläche heranwachsenden Mycels. Impfte ich hingegen auf keimfreien, gedämpften Reis die Konidien einer Reinkultur des Aspergillus Oryzae, so kamen mir nie die bei der Koji und Tane-Koji gesehenen Hefezellen zu Gesicht und eine Platinöse voll dieser Reisverflüssigung erzeugte auch niemals in Würze eine wahrnehmbare Gärung, sondern es trat nur Mycelbildung des Aspergillus auf.

---

1) Centralbl. No. 4/5. p. 150. No. 6. p. 209 und No. 15/16. p. 565.
2) Ibid. No. 17. p. 619.
3) Ibid. No. 22/23. p. 777.

Dieselbe reine Reisverflüssigung zeigte, in die feuchte Böttcher'sche Kammer gebracht, wenn untergetauchte ovale Konidien des Reispilzes in ihr vorhanden waren, immer nur ein Auskeimen und Mycelbildung auf gewöhnliche Weise; niemals aber konnte ich Sprossung der Konidien oder etwa eine Hefeabschnürung des Mycels bemerken.

Meine Resultate stimmen also mit denen von Klöcker und Schiönning vollständig überein. Eine Sklerotienbildung bei Aspergillus Oryzae, wie sie obengenannte Forscher fanden, habe ich zwar nicht beobachten können, dagegen sah ich kleine Konidien in verflüssigtem Reis öfter auskeimen, was C. Wehmer in seiner Arbeit über diesen Reispilz noch in Frage stellt [1]).

Nach dieser angeführten Veröffentlichung von Klöcker und Schiönning vom 3. Dez. brachte dann der Franzose E. Sorel am 16. Dez. 1895 in den Comptes rendus No. 25 einen Artikel: „Etude sur l'Aspergillus Oryzae", welcher als Referat von Grießmayer bereits am 22. Jan. 1896 in der „Allgemeinen Brauer- und Hopfen-Zeitung No. 9" erschien.

Darin will der Verf. die Ansichten Juhler's und Jörgensen's wieder aufrecht erhalten, nur mit dem Unterschiede, daß er seine Hefe nicht von den Konidien, sondern vom Mycel selbst bilden läßt.

Später brachte auch Schiönning ein Referat über dieselbe Arbeit im Centralblatte für Bakteriologie und Parasitenkunde. 1896. No. 4 und fügte am Schlusse bei, daß er in Gemeinschaft mit seinem Kollegen Klöcker unter diesen Bedingungen eine Umbildung ebensowenig wie früher beobachten konnte, doch seien die Versuche noch im Gange. Sieht man sich den Sorel'schen Artikel etwas näher an, so vermißt man die Angabe, ob mit Reinkulturen gearbeitet wurde, und haben diese Untersuchungen jedenfalls nur insofern einiges Interesse, als sich vielleicht daraus entnehmen ließe, ob die untergetauchten Konidien von Aspergillus Oryzae Alkohol zu bilden vermögen, denn nach den feststehenden Arbeiten von Klöcker und Schiönning über diesen Reispilz wird man doch unmöglich zu anderen Resultaten gelangen können. Die Sorel'schen Versuche wurden von mir, gleich nach Erscheinen des Grießmayer'schen Referates, ebenfalls angestellt und stimmen meine bisherigen Untersuchungen mit denen der Carlsberger Assistenten vollständig überein, doch sind meine Studien darüber noch nicht abgeschlossen.

Eine weitere Arbeit, die von verschiedenen Seiten zu Kontrollversuchen Anlaß gab, ist diejenige von Jörgensen, welche zuerst in No. 9/10 des Centralblattes für Bakteriologie und Parasitenkunde am 30. April 1895 p. 321 als: „Der Ursprung der Weinhefen" veröffentlicht wurde und dann später in dem Berichte des Gärungsphysiologischen Laboratoriums von Alfred Jörgensen zu Kopenhagen I unter dem Titel: „Ueber den Ursprung der Alkoholhefen" ausführlicher wiedererschien.

Es waren zunächst wieder Klöcker und Schiönning, welche am Schlusse ihrer Arbeit über Aspergillus Oryzae [2]) darauf

1) Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. II. Abt. Bd. I. 1895. No. 6. p. 216. Anmerkung 3 unten.

2) Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. II. Abt. Bd. I. 1895. No. 22/23. p. 782.

hinwiesen, daß sie sich bereits mit diesem Thema zu beschäftigen angefangen hätten und voraussichtlich auch auf diesem Gebiete die Richtigkeit von Jörgensen's Mitteilung verneinen müßten. Aus einem Privatbriefe von Geisenheim konnte entnommen werden, daß im dortigen Institute dieselben Untersuchungen ebenfalls mit negativem Ausgang angestellt worden sind. Ferner spricht sich Dr. H. Will am Schlusse seines Referates über Klöcker's und Schiönning's Arbeiten [2]) in gleicher Weise aus. Weitere ausführliche Berichte über diesen Gegenstand sind aber bis jetzt nicht erschienen, so daß die folgenden Zeilen eine erste, eingehendere Schilderung bieten dürften.

Bevor ich auf die Hauptversuche näher eingehe, möge es mir gestattet sein, einiges über das Sterilisieren der Weinbeeren zu berichten, da bekanntlich Jörgensen an keiner Stelle seiner Mitteilung auch nur eine Andeutung darüber bringt und H. Will am Schlusse seines bereits erwähnten Referates [1]) bemerkt: „Die Versuche scheiterten jedesmal daran, sämtliche auf den Trauben, auf welchen die Dematiumkulturen übertragen wurden, befindlichen Organismen zu beseitigen, eine Vorbedingung, die doch jedesmal erfüllt werden muß, wenn anders Täuschungen ausgeschlossen sein sollen."

Ein Keimfreimachen mit überhitzten oder strömenden Wasserdämpfen, sowie ein solches durch Auskochen der Trauben, hielt ich wegen der hierbei immer veränderlich tief eingreifenden Beeinträchtigung des Nährsubstrates für nicht zulässig. Mein Verfahren bestand vielmehr darin, daß ich die Beeren zuerst gründlich mit keimfreiem Wasser, dann mit etwa 40-proz. Alkohol abspülte und letzteren wieder mit sterilem Wasser entfernte. Die so ziemlich gereinigten Trauben brachte ich dann einen Tag lang in eine 0,3-proz. wässerige Salicylsäurelösung, da nach H. Will [2]) wilde Hefen, sowie Sporen von Kultur- und wilden Hefen in einer 0,17-proz. wässerigen Salicylsäurelösung bereits nach 15 Minuten Einwirkungszeit getötet werden sollen. Daß die Säure auch die Pilzsporen beeinträchtigte, scheint mir der weitere, günstige Erfolg bewiesen zu haben. Die Salicylsäurelösung wurde hierauf wieder abgegossen und die Weinbeeren solange mit sterilem Wasser ausgewaschen, bis ein davon entnommene Probe mit Eisenchloridlösung keine Spur einer violetten Färbung mehr hervorbrachte. Nun wurde jede Beere einzeln zur Kontrolle auf 14 Tage bis 3 Wochen in ein Kölbchen mit 30 ccm steriler, gehopfter Würze bei 25° in den Thermostaten gebracht. Es zeigte sich alsdann, daß eine Entwickelung von Organismen in der Würze meistens nicht mehr eintrat; bildete sich aber hie und da Mycel, so wurde die Beere wieder wie oben behandelt und abermals in Würze gebracht. Nach verstrichener Prüfungszeit konnte die Würze abgegossen werden und wurden die Weinbeeren nach wiederholtem Abwaschen mit keimfreiem Wasser vorsichtig in je eine

---

1) Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. München. No. 7. 1896.

2) Zeitschrift für das gesamte Brauwesen. XVI. Jahrgang. No. 48 und XVII. Jahrgang. No. 6.

sterile, runde, nicht zu kleine Glasdose übertragen. Um die Traubenbeeren in den Dosen sodann festzulegen, verwendete ich anfangs eine sterile 20-proz. Wassergelatine, doch erwies sich dieselbe nicht sehr praktisch, da das auf die Traube geimpfte Dematium fast immer auch auf die Gelatine gelangte und selbige alsbald verflüssigte. In der Folge zeigte sich dann das Ankleben mit einem Tropfen Kanadabalsam als sehr vorteilhaft und konnte so auch etwas steriles Wasser, gleich einer feuchten Kammer, in die Glasdose gebracht werden. Zu bemerken ist noch, daß ich mit roten und weißen elsässischen Trauben arbeitete und die solcherweise behandelten Beeren ihr normales, volles Aussehen zeigten. Außer dieser Art der Sterilmachung, welche mir die besten Resultate lieferte, versuchte ich auch eine solche mit Formalindämpfen und Sublimatlösung an spanischen Weinbeeren.

Nachdem eine Abtretung irgend welchen Materials von Jörgensen verweigert worden war, stellte ich mir zur weiteren Durchführung der Versuche mehrere Reinkulturen des Dematium pullulans sowohl von Berberitzen, wie von eingetrockneten Geisenheimer Trauben, welche letztere mir Professor Wortmann zu übersenden die Güte hatte, her. Diese zwei Dematiumkulturen verhielten sich vollständig identisch und zeigten in Würze, wie auf schwach saurer Nährgelatine dieselben Eigenschaften, wie sie Dr. P. Lindner in seiner: „Mikroskopischen Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben" auf p. 155/156 von diesem Pilze näher beschreibt. Impfte ich nun das reine Dematium als Strichkultur auf ungehopfte, alkalische Würzegelatine oder alkalische Mostgelatine, so begegnete ich nur hin und wieder dem zerfallend-sprossenden Mycel, was Jörgensen als Chalara-ähnliche Vegetation bezeichnet und abbildet [1]). Dieselben Formen konnte ich aber auch auf saurer Gelatine und in Most öfter nachweisen. Das einzige auffällige der alkalischen Strichkulturen war, daß die ungehopfte Würzegelatine sehr rasch verflüssigt und schleimig wurde, während die Mostgelatine längere Zeit zu widerstehen vermochte. Die im unteren Teile des Reagensrohres sich ansammelnde zähe Verflüssigung zeigte unter dem Mikroskope meistens nur in ihre Schleimhülle eingebettete und sprossende Dematiumhefe.

Nach diesen Versuchen ging ich zum Auftragen von Dematiumreinkulturen auf die oben erwähnten sterilen Trauben über und eigneten sich hierzu die roten Weinbeeren besser als die weißen, da das Wachstum des weißen Mycels sich von der roten Epidermis besser abhob. Jörgensen giebt hier an [2]), er habe die Dematiumformen von mit Schimmelpilzen übersäeten Traubenbeeren durch bloßes Auspräparieren mit der Lupe erhalten und nach dem Uebertragen auf sterile Trauben weiter verfolgt, erwähnt jedoch nicht, in welcher Weise er sich von der Reinheit des übertragenen Materials überzeugt hat. Meine Dematiumkulturen entwickelten sich auf der sterilen Traubenepidermis fast durchweg sehr günstig, wurden später schleimig-zähe, wie auf dem Gelatinenährboden, und gingen schließlich in den bekannten olivengrünen bis dunkelbraunen Gemmenzustand

1) Berichte des Gärungsphysiolog. Laboratoriums Kopenhagen I. p. 17.
2) Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. II. Abt. Bd. I. No. 9. p. 322 u. 323.

über. Weinbeeren, die an der Oberfläche verletzt waren und bei denen daher Saft austrat, zeigten den Pilz meistens in der Sproßform und überzog derselbe das Substrat zuletzt mit einer schwarzen, rußthauartigen Kruste. Auf spanischen Trauben mit und ohne Formalinbehandlung konnte dagegen eine Dematiumvegetation nicht erhalten werden, was ich auf die zu starke Dicke der Oberhaut zurückführen möchte. Zu den folgenden Untersuchungen brachte ich nun von zwei roten, sterilen Traubenbeeren mit gut entwickeltem Dematiummycel, die eine bei 32 Grad, die andere bei 25 Grad in den Thermostaten. Nach 8 Tagen war die bei 32 Grad eingestellte Beere ziemlich eingeschrumpft, das Mycel verschwunden und auf der Oberhaut fand sich nur noch nicht sprossende Dematiumhefe, deren Zelleinhalt ebenfalls dem Absterben nahe war. Niemals aber konnte ich die von Jörgensen beschriebene und abgebildete Torulavegetation [1]) entdecken. Nach 14 Tagen war die Traube dann vollständig eingegangen und auf der Epidermis absolut nichts mehr zu finden. Die einer Temperatur von 25 Grad ausgesetzte Traubenbeere zeigte nach 8 Tagen noch ihre volle Schönheit nebst reichlicher Mycelentwickelung an ihrer Oberfläche. Von diesem Mycel wurde etwas zum Mikroskopieren heruntergenommen und war ich nicht wenig erstaunt, in den mehr oder weniger zerfallenen Hyphengliedern scheinbar endogene Sporen aufgefunden zu haben, wenigstens hatten die entdeckten Formen große Aehnlichkeit mit den von Jörgensen in seinem Berichte des gärungsphysiologischen Laboratoriums I auf p. 22, Figur 7 dargestellten. Nur die Botrytis ähnliche Form konnte ich niemals auffinden, trotzdem ich öfter Dematiummycel dem unmittelbar zur Weinbeere stoßenden Teile des Stieles entnahm. Brachte ich aber die durch starkes Lichtbrechungsvermögen ausgezeichneten und scheinbar mit einer Membran umgebenen Endosporen mit Alkanatinktur in Berührung, so färbten sich diese Pseudosporen intensiv rot. Ließ ich andererseits Aether einige Zeit auf die vermeintlichen Endosporen einwirken, so wurden dieselben stets aufgelöst und schieden sich nach dem Verdunsten des Aethers als Oeltropfen wieder aus.

Dieselbe Enttäuschung mit Endosporen beschreibt genau ebenso auch schon E. Laurent in den Annales de l'Institut Pasteur 1888 [2]), wie ich nachträglich in der Litteratur fand. Hierauf brachte ich einen Teil obigen Mycels längere Zeit in steriles Wasser, denn nach Jörgensen [3]) sollten nur die Sporenmutterzellen eine derartige Behandlung überleben. Nach 25 Tagen untersuchte ich das Mycel mit dem Mikroskope und sah nun viele abgestorbene, entleerte Hyphenfäden, einige wenige Zellen mit Oeltröpfchen und sonst fast nur grünbräunliche Dauerformen. Es war mir also bisher nicht möglich, die von Jörgensen angeführte Chalara- und Torulavegetation, sowie eine Endosporenbildung bei Dematium nachzuweisen. Ferner konnte

1) Berichte des gärungsphysiolog. Laboratoriums zu Kopenhagen. I. p. 18 und 19.
2) No. 11 p. 595. 4. Absatz und p. 597 unten Anmerkung 3.
3) Berichte des gärungsphysiol. Laboratoriums. I. p. 24.

ich auch diese sporenbildenden Schimmelzellen niemals in Weinproben oder neben Weinhefen entdecken, trotzdem ich verschiedene Sorten derselben, welche mir von Professor Blankenhorn aus Müllheim in Baden freundlichst zur Verfügung gestellt waren, mikroskopisch genau untersuchte [1]. (Schluß folgt.)

Referate.

Migula, W., Schizomycetes. (Engler-Prantl, Natürl. Pflanzenfamilien. Lief. 129.) Leipzig (Engelmann) 1896.

Seitdem man begonnen hat, die so wichtige Gruppe der Schizomyceten genauer zu erforschen, ist eine so ungeheure Menge von Thatsachen ans Licht gefördert worden, daß von Zeit zu Zeit eine Zusammenfassung nötig wurde, um die Uebersicht zu bewahren. Der Erste, der von botanischer Seite eine gewisse Ordnung in das Chaos der Formen zu bringen suchte, war Cohn, dessen Grundprinzipien der Einteilung auch heute noch nicht aufgegeben sind. Nachdem die Bakteriologie durch die Ausbildung der Gelatinekulturen durch Koch einen ungeahnten Aufschwung genommen hatte, wurde auch von Seiten der Mediziner versucht, neue Systeme der Schizomyceten aufzustellen. Diese Versuche sind nicht glücklich ausgefallen, weil die biologischen und physiologischen Merkmale in den Vordergrund gegenüber morphologischen gestellt wurden. Dadurch entstanden Bestimmungstabellen, aber keine Systeme. Von Seiten der Botaniker ist den Bakterien seit Zopf und De Bary wenig Aufmerksamkeit mehr geschenkt worden, erst in neuerer Zeit beginnt sich das Interesse dafür wieder mehr zu regen. Es bedarf neuer Ideen und Methoden, um den Ausbau weiter fortzusetzen; diese aber kann nur die Botanik durch die Morphologie liefern. Daß damit ein Schritt weiter zu kommen ist, zeigt deutlich die Arbeit Migula's, der allein mit Anwendung botanischer Methoden eine neue Einteilung gegeben hat.

Auf die Einleitung einzugehen, lohnt nicht, weil darin bereits bekannte Thatsachen mitgeteilt werden, die hier nur unter neuen Gesichtspunkten zusammengefaßt werden. Gleichwohl wird dieselbe zur Einführung in das Studium der Formen ausgezeichnete Dienste leisten. Bevor auf einzelne Formen eingegangen wird, sei erst das System in seinen Hauptzügen zum Abdrucke gebracht.

Uebersicht der Familien.

I. Zellen, in freiem Zustande kugelrund, sich vor der Teilung nicht nach einer Richtung in die Länge streckend. Zellteilungen nach 1, 2 oder 3 Richtungen des Raumes 1) Coccaceae.

1) Vergl. Ibid. p. 33.

II. Zellen, kürzer oder länger cylindrisch, sich nur nach einer Richtung des Raumes teilend und vor der Teilung auf die doppelte Länge streckend.

a) Zellen gerade, stäbchenförmig ohne Scheide, unbeweglich oder durch Geißeln beweglich 2) Bacteriaceae.

b) Zellen gekrümmt, ohne Scheide 3) Spirillaceae.

c) Zellen von einer Scheide umschlossen 4) Chlamydobacteriaceae.

d) Zellen ohne Scheide, zu Fäden vereinigt, durch undulierende Membranen beweglich 5) Beggiatoaceae.

Uebersicht der Gattungen.

1) Coccaceae.

A. Zellen ohne Bewegungsorgane.

a) Teilung nach einer Richtung des Raumes 1) Streptococcus.

b) Teilung nach zwei Richtungen des Raumes 2) Micrococcus.

c) Teilung nach drei Richtungen des Raumes 3) Sarcina.

B. Zellen mit Bewegungsorganen.

a) Teilung nach zwei Richtungen des Raumes 4) Planococcus.

b) Teilung nach drei Richtungen des Raumes 5) Planosarcina.

2) Bacteriaceae.

A. Zellen ohne Bewegungsorgane 6) Bacterium.

B. Zellen mit Bewegungsorganen (Geißeln).

a) Geißeln, über den ganzen Körper zerstreut 7) Bacillus.

b) Geißeln polar 8) Pseudomonas.

3) Spirillaceae.

A. Zellen starr, nicht schlangenartig biegsam.

a) Zellen ohne Bewegungsorgane 9) Spirosoma.

b) Zellen mit Bewegungsorganen.

1) Zellen mit 1, selten 2—3 polaren Geißeln 10) Microspira.

2) Zellen mit polaren Geißelbündeln 11) Spirillum.

B. Zellen flexil 12) Spirochaeta.

4) Chlamydobacteriaceae.

A. Zellinhalt ohne Schwefelkörnchen.

a) Zellfäden unverzweigt.

I. Zellteilungen stets nur nach einer Richtung des Raumes 13) Streptothrix.

II. Zellteilung vor der Konidienbildung nach drei Richtungen des Raumes.

1) Zellen von sehr zarter, kaum sichtbarer Scheide umhüllt (marin) 14) Phragmidiothrix.
2) Scheide deutlich erkennbar (im Süßwasser) 15) Crenothrix.
b) Zellfäden verzweigt 16) Cladothrix.
B. Zellinhalt mit Schwefelkörnchen 17) Thiothrix.

5) Beggiatoaceae.

Einzige Gattung 18) Beggiatoa.

Durch eine neue Abgrenzung der Gattungen ist natürlich die Stellung vieler bekannter Arten eine andere geworden. Es ist deshalb notwendig, noch mit einigen Worten auf die wichtigsten Arten in den einzelnen Gattungen hinzuweisen. Angeführt sind bei jeder Gattung die bekannten Arten, namentlich sind auch die Erreger von Krankheiten ausführlich behandelt.

Streptococcus umfaßt auch Leuconostoc, so daß jetzt unter diese Gattung außer den bekannten Streptococcusarten (z. B. S. Erysipelatos, coryzae etc.) auch Leuconostoc mesenterioides fallen würde.

Micrococcus schließt die Gattungen Lampropedia, Hyalococcus, Leucocystis, Ascococcus, Diplococcus und Staphylococcus in sich. Als Zahl der annehmbaren Arten giebt Migula 150 an, die auf 2 Untergattungen verteilt werden: Eucoccus Mig. und Thiopylococcus Winogr. Zu ersterer gehören die bekannten pathogenen Formen, die Eiterung erregen, ferner M. Gonorrhoeae, M. tetragenus, M. ascoformans, von nicht pathogenen Formen die bekannten Farbstoffbildner: M. aurantiacus, luteus, cinnabareus, candicans, ferner die Gärung erregenden: M. ureae, M. acidi lactici, endlich M. phosphorescens. Zur zweiten Untergattung gehört M. ruber.

Sarcina wird in Eusarcina Mig. und Thiosarcina Winogr. eingeteilt. Die Begrenzung dieser Gattung ist nicht geändert.

Planococcus enthält nur wenige, vorläufig noch nicht näher bekannte Arten. In der Untergattung Euplanococcus: Pl. citreus (Micrococcus citreus agilis) und in der Untergattung Thiopedia Winogr. P. roseus.

Plenosarcina besitzt 5 Arten. Euplanosarcina Mig. mit P. mobilis, P. agilis (Microc. agilis), Thiocystis Winogr. mit P. violacea und Lamprocystis Winogr. mit P. roseopersicina.

Bakterium umfaßt alle bewegungslosen Formen der Bakteriaceen. Bei der großen Zahl der Arten (ca. 200) sind nur wenige angeführt, darunter B. anthracis, B. mallei, B. pneumoniae, B. tuberculosis, B. leprae, B. syphilitis, B. rhinoskleromatis, A. influenzae, B. diphtheritis, B. murisepticum, B. erysipelatos suum, B. cuniculicida, B. capsulatum, B. aceticum, P. Pasteurianum, B. acidi lactici, B. ureae u. s. w.

Bacillus besitzt Geißeln, die über den ganzen Vegetationskörper zerstreut sind. Von hierher gehörigen Formen seien nur genannt: B. carbonis (Rauschbrandbac.), B. suicida (Bac. der deutschen Schweineseuche), B. coli (Bacterium coli commune), B. radicicola, B. prodigiosus (Microc. prod.), B. vulgaris (Proteus vulgaris) u. s. w.

Pseudomonas wird in Eupseudomonas Mig. und Chromatium Perty eingeteilt. Genannt seien von ersterer Untergattung P. pyocyanea (Bacillus pyoc.), P. violacea (Bacillus viol.), P. putida (Bacillus fluorescens putidus), P. syncynaea (Vibrio sync.), P. fluorescens (Bacillus fluorescenz liquefaciens), P. erythrospora (Bacillus erythr.), P. berolinensis (Bacillus berolinensis indicus), P. rosacea (Bacillus rosacea metalloides), P. europaea (Nitrosomonas eur.), P. javanensis (Nitrosomonas jav.). Zu Chromatium gehört P. Okenii (Monas Ok.)

Spirosoma besitzt 5 Arten, S. linguale und S. nasale sind die bekanntesten.

Microspira incl. Photobacterium enthält M. comma, M. Finkleri, M. Metschnikoffii, M. berolinensis, M. danubica, M. tyrogena u. a.

Spirillum besitzt in seiner Untergattung Euspirillum Mig. die bekannten Arten S. undula, S. volutans, S. concentricum u. a. Thiospirillum Winogr. schließt nur wenige Arten ein, z. B. S. rufum, S. jenense (Ophidomonas jen.).

Spirochaeta mit der bekannten S. Obermeieri, ferner S. plicatilis, S. anserina u. s. w.

Streptothrix mit nur wenigen genauer benannten Arten, unter diesen sind zu erwähnen S. epiphytica, S. fluitans, S. hyalina.

Phragmidiothrix enthält nur die eine Art P. multiseptata.

Crenothrix mit der C. polyspora.

Cladothrix besitzt eine Anzahl von nur zum Teil besser bekannten Arten. Genannt seien C. dichotoma, C. natans (Sphaerotilus nat.), C. bovis (Actinomyces bovis) u. s. w. Der Name der Gattung kann nicht beibehalten werden, da bereits der ältere Nuttall'sche Name für eine Amarantaceengattung angenommen ist. Es hat der Name von O. Kuntze, der allerdings nicht besonders schön gebildet ist, an die Stelle zu treten, nämlich Cohnidonum.

Beggiatoa ist in der bekannten Umgrenzung genommen.

Das Heft ist reich mit Figuren, und zwar mit Originalfiguren, ausgestattet. Auch diese werden ihr Teil dazu beitragen, der Arbeit die verdiente Verbreitung zu verschaffen. Lindau (Berlin).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Dr. Wilhelm Windisch.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Abbott, A. C., The principles of bacteriology: A practical manual for students and physicians. 3. ed. Revised. 494 p. London (H. K. Lewis) 1896. 12 sh. 6 d.

Bourquelot, Emile, Les Ferments solubles (Diastases-Enzymes). (Société d'éditions scientifiques. Paris 1896.)

Gruber, M., Pasteur's Lebenswerk im Zusammenhang mit der gesamten Entwickelung der Mikrobiologie. Vortrag. (Aus: Wien. klin. Wchschr. 1896.) gr. 8°. 39 p. Wien (Braumüller) 1896. 0,80 M.

— —, Erwiderung auf R. Pfeiffer's Kritik meines Vortrages „Pasteur's Lebenswerk im Zusammenhang mit der gesamten Entwickelung der Mikrobiologie. (Dtsche med. Wchschr. 1896. No. 6. p. 94—95.) — **Pfeiffer, R.**, Bemerkungen zu vorstehender Erwiderung. (Ibid. p. 95.)

Refik, Sur les divers types de coli bacille des eaux. (Annal. de l'Instit. Pasteur. T. X. Année X. 1896. No. 4. p. 242.)

Thiele, R., Die Temperaturgrenzen der Schimmelpilze in verschiedenen Nährlösungen. gr. 8°. Leipzig (Oskar Schack) 1896. 1,50 M.

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

d'Arsonval et **Charrin**, Action de l'électricité sur les toxines bacteriennes. Deuxième note. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1896. No. 4. p. 121—123.)

Cathelineau, Contribution à l'étude biologique du bacillus viridis de Lesage. (Annal. de l'Instit. Pasteur. T. X. Année X. 1896. No. 4. p. 228.)

Friedenthal, H., Ueber den Einfluß des elektrischen Stromes auf Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. 1. Abt. Bd. XIX. 1896. No. 9/10. p. 319.)

Gottstein, A., Ueber den Einfluß des elektrischen Stromes auf Bakterien. (Centralbl f. Bakt. u. Parasitenk. 1. Abt. Bd. XIX. 1896. No. 16/17. p. 602.)

Sorel, E., Etude sur l'Aspergillus oryzae. (Compt. rend. T. CXXI. 1895. No. 25. p. 948—950.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Dejonghe, Gaston, Fermentation de la mélitriose et de la mélibiose. Recherche de la levure basse dans la levure pressée. d'après Arminius Bau et H. Herzfeld. (Journ. de la Distillerie française. Année XIII. 1896. No. 619. p. 178.)

Weinbereitung.

Einige Bemerkungen über Reinhefe. (Die Weinlaube. Jahrg. XXVIII. 1896. No. 18. p. 205.)

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Bratanich, A., Die Fleischvergiftung in Schönau und Umgebung (Milzbrand kombiniert mit Trichinose). (Prag. med. Wchschr. 1896. No. 1—3, 5. p. 14—15, 26—28, 51—53.)

Nasarow, D., Ueber den vergleichenden Einfluß der Milch und der gekästen Milch auf die Quantität der Aetherschwefelsäure im Harn und d n Bakterien in den Faeces. (Wratsch. 1896. No. 44.) [Russisch.]

Ostertag, Ueber die Verwertung des Fleisches finniger Rinder. (Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1896. Heft 4. p. 63—69.)

Vaugham, V. C. and **Perkins, G. D.**, Food infection with toxicogenic germs. (Med. News. Vol. II. 1895. No. 20. p. 538—542.)

Luft.

Sudeck, P., Ueber das Vorkommen von diphtherieähnlichen Bacillen in der Luft. Sep.-Abdr. gr. 8°. 8 p. Leipzig (Langkammer) 1896. 0,40 M.

Wasser.

Dibdin, W. J., Microscopical examination of water. (The Analyst. Jahrg. XXI. 1895. p. 2—5.)

Wischegorodsky, S., Ueber choleraähnliche Stäbchen im Wasser des Wedenschen Kanals. (Wratsch. 1895. No. 37, 39, 40.) [Russisch.]

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Der Einfluß des Nematodenschadens auf die Zusammensetzung der Zuckerrüben. (Zeitschr. der Landwirtschaftskammer f. d. Prov. Sachsen. 1896. No. 3. p. 98.)

Vanha, Johann u. **Stocklasa, Julius**, Die Rüben-Nematoden (Heterodera, Dorylaimus und Tylenchus). Mit Anhang.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Celli, A., Die Kultur der Amöben auf festem Substrate. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. 1. Abt. Bd. XIX. 1896. No. 14/15. p. 536)

Hamilton, D. J., An apparatus for the cultivation of anaërobes. (Brit. med. Journ. 1896. No. 1827. p. 6—7.)

v. Kahlden, C. et **Laurent, O.**, Technique microscopique appliquée à l'anatomie pathologique et à la bactériologie. Manuel pratique. gr. 8°. Paris 1896. 5 fr.

Noetzel, W., Ueber den Nachweis von Kapseln an Mikroorganismen. (Fortschr. d. Med. 1896. No. 2. p. 41—51.)

Schardinger, Franz, Reinkulturen von Protozoen auf festen Nährböden. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. 1. Abt. Bd. XIX. 1896. No. 14/15. p. 538.)

Sternberg, Geo M., What shall be the methods followed in determining the relation of bacteria to temperature? (Journ. of the Amer. public health Association. X. 1895.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Grethe, Ueber die Wirkung verschiedener Chininderivate auf Infusorien. (Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LVI. 1896. Heft 1/2.)

Likudi, G., Einige Bemerkungen zur Charakteristik der Uransalze. Die desinfizierende Eigenschaft dieser Salze. (Wratsch. 1895. No. 38—40.) [Russisch.]

Tappeiner, H., Ueber die Wirkung von Chininderivaten und Phosphinen auf niedere Organismen. (Münch. med. Wchschr 1896. No. 1. p. 1—4.)

— —, Ueber die Wirkung der Phenylchinoline und Phosphine auf niedere Organismen. (Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LVI. 1896. Heft 3/4.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

1896. Centralblatt Bd. II. No. 9.
für Bakteriologie und Parasitenkunde.
II. Abteilung.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Prof. Dr. M. W. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. v. **Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg
herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

II. Band. Jena, den 15. Juni 1896. **No. 10/11.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige ***Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original-Mittheilungen.

Ueber die Aufbewahrung der Hefe in Saccharoselösung.

Von

Just Chr. Holm,
Laboratoriumsvorstand, Kopenhagen.

Wie bekannt, kam man erst nach der Einführung absolut reiner Kulturen nach Hansen's Methode zur rationellen Anwendung einer Saccharoselösung als Aufbewahrungsmittel für Hefe. Durch vieljährige Erfahrungen hat diese Lösung sich als weit zweckmäßiger bewährt als z. B. Würze und Würzegelatine oder die übrigen in Anwendung gebrachten Substrate fester oder flüssiger Natur, indem in den letzteren

mehrere Hefearten nach kürzerer oder längerer Zeit absterben, während sie in der Saccharoselösung sich einen viel längeren Zeitraum hindurch lebend erhalten (die betreffenden Versuche erstreckten sich über 14 Jahre)[1]).

Nur bei sehr wenigen Hefearten läßt sich eine Ausnahme konstatieren, indem für diese die Saccharoselösung als ein weniger geeignetes Aufbewahrungsmittel erscheint. So hat Hansen mitgeteilt, daß Saccharomyces Ludwigii in Saccharose nach 2—3 Jahren abstirbt, und ich habe gefunden, daß eine Melassehefe aus Jamaica in Saccharoselösung schon nach 1 Jahre abgestorben war, während dieselbe in Würze nach ca. $2^1/_2$ Jahren noch fortlebte. Diese Hefe, welche zu den sogenannten Schizosaccharomyces-Arten gehört, scheint bei der Rumgärung eine Rolle zu spielen, indem sie dazu beiträgt, dem Destillate ein eigentümliches Aroma zu verleihen. Insbesondere über diesen letzteren Punkt liegen verschiedene Mitteilungen vor von Percival H. Greg, der während eines Studienaufenthaltes hier am gärungsphysiologischen Laboratorium von Alfred Jörgensen im Jahre 1893 die Untersuchung dieser und nahe verwandter Arten in Angriff nahm, welche aus dem sogenannten „Dunder" ausgeschieden und reingezüchtet wurden [2]).

Eine ganz ähnliche Ausnahme scheint für die von Schjönning[3]) beschriebene Art stattzuhaben, welche wahrscheinlich mit Beyerinck's Schizosaccharomyces octosporus identisch ist. Diese einzelnen Formen ausgenommen, welche eine besondere Gruppe unter den Saccharomyceten bilden, scheinen alle Saccharomyceten und Nichtsaccharomyceten in einer 10-proz. Saccharoselösung sehr lange leben zu können.

Als wesentliche Bedingung für die Aufbewahrung einer Sammlung von Kulturen in Saccharoselösung einen längeren Zeitraum hindurch ist hervorzuheben, daß man Kolben besitzen muß, welche die Verdunstung der Flüssigkeit nicht gestatten und die wenig Raum beanspruchen.

Die Saccharoselösung mit der darin deponierten Hefe wird bei Zimmertemperatur und gewöhnlich in Hansen'schen Kolben aufbewahrt. Diese Kolben bieten den Vorteil, daß sie mit den Pasteurkolben, in welchen die Hefe entwickelt wird, in direkte Verbindung gebracht werden können, sowie sie der obengenannten Bedingung zum Teile entsprechen, nämlich was den Raum betrifft, was von großer Bedeutung ist für ein Laboratorium, wo Heferassen in mehreren Hunderten Kolben aufbewahrt werden. Für kleinere Sammlungen kann man natürlich $^1/_8$ Liter Pasteurkolben benutzen. Es ist jedoch mit diesen der Mißstand verbunden, daß die Gummischläuche des kurzen Rohres beim Aelterwerden leicht Risse erhalten und dadurch zur Infektion aus der Luft her Anlaß geben. In diesem Falle muß man den Gummischlauch und Glasstöpsel durch einen Asbest-

1) E. Chr. Hansen, Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie. Heft I. 3. Ausg. 1895.

2) Percival H. Greg, The Sugar Cane. Manchester 1893. (Bulletin of the Botanical Department. Jamaica, August, Septbr. und Novbr. Vol. XXV. No 292. 1895.)

3) Comptes-rendus du Laboratoire de Carlsberg. Vol. IV. 1 livr.

stöpsel ersetzen, welcher, wie bei den Hansen'schen Kolben, mit Lack überzogen werden muß.

Es ist indessen mit dem Gebrauche der Hansen'schen Kolben ein Uebelstand verbunden, indem die Flüssigkeit bei der Temperatur des Zimmers nach einiger Zeit zum größten Teile verdunstet ist und infolgedessen die Zuckerlösung nach und nach eine Konsistenz wie Syrup angenommen hat, was wiederum das Absterben der Hefezellen zur Folge gehabt hat.

Diese Verdunstung geschieht natürlich durch den in dem senkrechten Rohre der Haube befindlichen baumwollenen Filter. Daß dieselbe nicht durch etwaige Oeffnungen zwischen der Haube und dem zugeschliffenen Halse des Kolbens oder durch das schräg gestellte Rohr am Kolben selbst stattfindet, wird dadurch verhütet, daß um den Hals des Kolbens und den untersten Teil der Haube ein breiter Ring von Siegellack gelegt wird, während das schräg gestellte Rohr sowohl mittels eines dichtschließenden Asbeststöpsels (fest gerollte Asbestpappe), als auch mittels einer um diesen und um das Rohr gelegten Schicht von Siegellack verschlossen wird.

Behufs Verhütung dieser Verdunstung wurden im Gärungsphysiologischen Laboratorium von Alfred Jörgensen im Laufe der letzten Jahre Versuche über verschiedene von Jörgensen angegebene Modifikationen der Hansen'schen Kolben angestellt. Zwei von diesen Modifikationen haben sich als dem Zwecke vollkommen entsprechend erwiesen, indem in diesen die Saccharoselösung in 20 Monaten nicht verdunstet, während dieselbe in Hansen'schen Kolben, welche den gleichen Zeitraum hindurch und bei der gleichen Temperatur (der des Zimmers) stehen gelassen waren, in recht erheblichem Umfange verdunstet war. Keiner der Kolben war in dem verstrichenen Zeitraume geöffnet gewesen.

Es handelte sich hier darum, ein Modell zu wählen, welches nicht allein die Eigenschaft besäße, daß die Verdunstung in merkbarem Grade gehemmt würde, sondern auch noch leicht und bequem zu handhaben wäre; das senkrechte Rohr an der Haube durfte nicht bedeutend verlängert werden, weil der Kolben dann leicht umstürzen könnte.

Ich gehe nun zur näheren Beschreibung der beiden erwähnten Modelle, welche sich als die zweckdienlichsten erwiesen, über.

Das erstere hat genau dieselbe äußere Gestalt wie der Hansen'sche Kolben, ist aber inwendig mit einem umgebogenen Rohre versehen, welches an die Haube festgeschmolzen ist und mit deren Filterrohre in unmittelbarer Verbindung steht. Die Flasche kann bis etwas über die Hälfte gefüllt werden, ohne das gebogene Rohr zu erreichen. Da bei jeder Infektion aus der Saccharoselösung nur ein Tropfen in einen Würzekolben übertragen wird, wird auf lange Zeit Raum genug sein für ausreichende Quantitäten [1]).

Bei dem zweiten Modelle ist der Haube des Kolbens eine abweichende Gestalt gegeben, indem sie ein wenig über der Mitte etwas eingeengt ist; auch ist an die Haube ein Rohr angeschmolzen, welches

1) Ein Modell mit einem sehr kurzen gebogenen Rohre wird jetzt geprüft.

mit dem Filterrohre in Verbindung steht; das angeschmolzene Rohr ist aber viel kürzer, reicht nicht bis an den Hals des Kolbens herab und ist nach der einen Seite hin gebogen. Dieses Modell kann daher stärker mit Flüssigkeit gefüllt werden als das erstere.

Es wird, dem oben Gesagten gemäß, eines dieser Modelle zum künftigen Gebrauche in Laboratorien zu empfehlen sein, wo es sich darum handelt, Flüssigkeiten auf lange Zeiten aufzubewahren, ohne daß dieselben verdunsten. Der zuerst beschriebene Kolben ist seit Anfangs des Jahres 1896 in Alfred Jörgensen's Laboratorium eingeführt.

Die Anwendung dieser Kolben wird indessen nicht auf Flüssigkeiten zu beschränken sein. Auch verschiedene Nährgelatinen und Agar-Agar werden in denselben lange Zeiträume hindurch mit Erfolg aufbewahrt werden können. Wie bekannt, schrumpft die Gelatine nach einiger Zeit ein, wird hart und knorpelig an der Oberfläche, sowie sie beim Inokulieren mit der Impfnadel an der Stelle, wo der Impfstrich angelegt wird, berstet. Wenn man den Alfred Jörgensen'schen Kolben benutzt, vermeidet man diese Uebelstände. Bei vergleichenden Versuchen, welche ich mit dem zuerst beschriebenen Kolben und dem alten Modell (Hansen's Kolben) angestellt habe, zeigte die Gelatine in jenem nach 6 Monaten bei der wechselnden Temperatur des Zimmers dasselbe Aussehen, wie beim Beginn des Versuches; die Oberfläche war ganz eben, während im alten Modell die Gelatine stark eingetrocknet war, so daß die Oberfläche konkav geworden war.

Es versteht sich von selbst, daß die Hauben ganz genau schließen oder mit einem breiten Lackrande versehen sein müssen, um die sonst auf diesem Wege erfolgende Verdunstung gänzlich zu verhüten.

Die Kolben werden vom Glasbläser Mortensen, Vestergade No. 28, Kopenhagen, angefertigt.

Gärungsphysiologisches Laboratorium von Alfred Jörgensen, Kopenhagen, im Mai 1896.

Bemerkungen zu Dr. H. Weigmann's Mitteilung über den jetzigen Stand der bakteriologischen Forschung auf dem Gebiete des Käsereifungsprozesses [1].

Von

Dr. Ed. von Freudenreich.

Mit großem Interesse habe ich die Mitteilungen gelesen, welche Dr. Weigmann, veranlaßt durch meine, in Bd. I. (p. 854) dieser Zeitschrift erschienene kurze Notiz, neulich gemacht hat. Solche Beobachtungen, wenn sie auch kein abgeschlossenes Ganzes bilden,

1) Diese Zeitschrift. II. p. 150.

haben doch für den Fachmann oft großen Wert, indem sie Bestätigungen und Ergänzungen eigener Befunde bilden. Es mag mir daher vergönnt werden, im Anschlusse daran einige Erfahrungen mitzuteilen, welche dieselben unterstützen und vervollständigen und daher das Interesse der auf diesem Gebiete arbeitenden Bakteriologen beanspruchen dürften.

Bei seinen Untersuchungen über die Frage, inwieweit das Nachwärmen bei der Hartkäsefabrikation die Pilzflora eines Käses beeinflussen mag, fand Weigmann in der auf 55° erwärmten Milch fast in Reinkultur einen sehr großen, die Gelatine verflüssigenden Coccus. Sehr wahrscheinlich ist dieser Coccus identisch mit dem von mir in früheren Publikationen erwähnten verflüssigenden Coccus, den ich stets in großer Anzahl in den ganz frischen Emmenthalerkäsen gefunden habe, der aber bereits wenige Tage nach der Herstellung der Käse aus denselben verschwindet. Ein mit diesem Micrococcus von Dr. Weigmann geimpfter, nach Goudaart hergestellter Käse zeigte, was seinen Geschmack anlangte, nach 4 Monaten Aehnlichkeit mit dem Schweizerkäse. In aus pasteurisierter Milch hergestellten Käsen, denen ich Reinkulturen dieses Coccus zugesetzt hatte, bemerkte ich zwar keine Reifung; möglich wäre es aber, daß diese Bakterie in Käsen, denen die eigentlichen Reifungsbakterien abgehen, keine vollkommene Reifung zu stande bringen, daß sie aber, wenn andere notwendige Bakterien vorhanden sind — der Versuchskäse von Dr. Weigmann war, glaube ich, aus gewöhnlicher, nicht pasteurisierter Milch hergestellt —, den Geschmack beeinflussen kann. Jedenfalls spricht der Umstand, daß der fragliche Coccus in frischen Käsen äußerst zahlreich auftritt, dafür, daß ihm bei dem Reifungsprozeß irgend eine Rolle zukommt.

Weiter beschreibt Dr. Weigmann einen breiten Bacillus, den er in schlecht sterilisierter Milch gefunden hatte. Mit demselben impfte er einen Käse; letzterer schmeckte anfänglich schlecht, hatte später aber den Geschmack und Geruch des Wilstermarschkäses (eines Art Goudakäse). Das Resultat war noch besser, als ein zweiter Käse mit geringerer Menge geimpft wurde. In diesem Bacillus glaube ich den von mir in einer früheren Arbeit (Centralbl. für Bakt. II. Abt. I. p. 168) Bacillus 1 genannten Mikroorganismus wiederzufinden, einen verflüssigenden Bacillus, den ich relativ häufig im Käse gefunden habe. In einigen Versuchen, in denen ich denselben der Milch vor dem Käsen zusetzte, wurde der Geschmack des Käses, wie im ersten Versuche von Dr. Weigmann, verschlechtert, so daß eine nützliche Rolle desselben mir sehr unwahrscheinlich schien. In letzterer Zeit ist indessen meine Aufmerksamkeit wieder auf denselben gezogen worden, weil ich die Bemerkung gemacht habe, daß in auf 80° erwärmten Käseemulsionen (das Erwärmen hat den Zweck, das Wachstum der verflüssigenden, gewöhnlich resistenteren Arten infolge Abtötung der Milchsäurebakterien auf den Gelatineplatten zu erleichtern), die bei Bruttemperatur gehalten werden, dieser Bacillus sich fast immer üppig entwickelt, ein Beweis, daß er ein häufiger Bewohner des Käses ist.

Die fernere Beobachtung Weigmann's, daß Bacillus sub-

tilis und einige andere verflüssigende Bacillenarten mit Bezug auf das Reifen der Käse nur negative Resultate gaben, stimmt ganz und gar mit den Resultaten, die ich bei Einimpfung verschiedener zur gleichen Klasse gehörender Mikroorganismen erhielt (so meine Versuche mit meinem Bacillus 6, der mit Tyrothrix tenuis Duclaux identisch zu sein scheint; vgl. die oben citierte Arbeit).

Eine ganz ähnliche Beobachtung, wie die von Weigmann bezüglich der Milch mit Geruch nach überreifem Limburger Käse citierte Erscheinung machte ich meinerseits. Bei anaëroben Züchtungsversuchen aus solcher Milch erhielt nämlich Weigmann eine besonders auf der Oberfläche der Platten wachsende Bakterienart a, deren Kulturen in Milch den gleichen Gestank hervorbrachten. Weitere Umzüchtungen zeigten aber, daß der Geruch nicht von Bakterie a, sondern wohl von einer anderen, den Kulturen beigemischt gewesenen zweiten Art b herrührte, deren Trennung jedoch bis jetzt nicht gelingen wollte.

Die von mir beobachteten Thatsachen bestehen in Folgendem: Ich hatte bemerkt, daß in mehreren meiner erwärmten Käseemulsionen sich mit der Zeit ein sehr ausgesprochener Käsegeruch entwickelt hatte; Plattenkulturen, auch anaërobe in einer Wasserstoffatmosphäre gaben mir indes nur Kolonieen meines Bacillus 1. Während nun mein früherer Bacillus 1, in sterilisierte frische Käsemasse eingeimpft, dieselbe stark verflüssigte, aber ohne wesentliche Geruchsbildung, entwickelten die jetzt erhaltenen Kulturen, die mikroskopisch rein zu sein schienen, einen heftigen fauligen Limburgerkäsegeruch in sterilisierter frischer Käsemasse. In letzterer zeigte aber das Mikroskop außer Bacillus 1 Clostridiumformen. Ich stellte nun wiederum anaërobe Platten her, aber nicht in Wasserstoff, sondern einfach, indem ich in verflüssigte Zuckeragarröhrchen eine Spur der fauligen Käsemasse impfte, gut durchschüttelte und erkalten ließ. Während nun auf der Oberfläche Bacillus 1 sich entwickelte, wuchsen in der Tiefe einige Kolonieen eines anaëroben Bacillus, der sich als identisch mit meinem Clostridium foetidum lactis erwies. Es scheint mir daher sehr wahrscheinlich, daß Dr. Weigmann den gleichen Mikroorganismus in seinen Kulturen hatte. In letzter Zeit ist es mir überdies zur Gewißheit geworden, daß dieses Clostridium foet. lactis nichts anderes ist als der Bacillus des malignen Oedems. Die große Verbreitung des letzteren, besonders in tierischen Exkrementen, erklärt seine Gegenwart in der Milch.

Für mich haben die Befunde Dr. Weigmann's großen Wert, indem die Aehnlichkeit unserer Resultate darthut, daß es sich nicht um zufällige, irrelevante Erscheinungen handelt, sondern um solche, die auf Allgemeingiltigkeit Anspruch haben. Aus diesem Grunde glaube ich, obwohl die bisherigen Untersuchungen noch nicht abgeschlossen sind, sie schon jetzt als Nachtrag zu der Veröffentlichung von Dr. Weigmann mitteilen zu dürfen.

Bern, im April 1896.

Original-Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

Aus der vom k. b. Staate subv. Versuchsstation für Bierbrauerei zu Nürnberg.

Studien über die Abstammung der Saccharomyceten.

Vorläufige Mitteilung.

Von

O. Seiter.

(Schluß.)

Es bleibt mir jetzt nur noch übrig, auf die Arbeit von Dr. Hugo Eckenroth und R. Heimann: „Ueber Hefe und Schimmelpilze an den Trauben“ [1]) etwas näher einzugehen. Der Bitte um Ueberlassung von Material wurde von Seiten des Autors in freundlichster Weise entsprochen. Das übersandte Hefepenicillium beobachtete ich zunächst längere Zeit auf schwach saurer, ungehopfter Würzegelatine in der feuchten Böttcher'schen Kammer, worin es stets sehr hübsch heranwuchs. Eckenroth beschreibt nun das Mycel als verzweigte, dematiumähnliche Vegetation [2]). Nach meinen Beobachtungen muß ich eine derartige Aehnlichkeit des heranwachsenden Mycels in Frage stellen, da bei den von mir gefundenen Formen ein Vergleich mit Dematium ziemlich fern liegt. Das Mycelium, fährt er dann fort [3]), hatte sich insofern verändert, als an zahlreichen Orten riesige Anschwellungen erschienen waren. Dieses blasige Anschwellen konnte ich zwar öfter beobachten, doch findet sich dasselbe auch bei anderen Pilzen, z. B. Penicillium glaucum [4]), vor. An einer anderen Stelle [5]) heißt es dann: „Es werden zuerst die hefeähnlichen Zellen von den Myceliumästen selbst abgeschnürt; die Abschnürung fängt nach 18 Stunden bei 25° C an.“ Ich habe daher die Mycelbildung aus den Sporen in der feuchten Kammer öfter peinlich beobachtet und genau abgezeichnet, konnte aber nach 24 Stunden und selbst später niemals eine Hefeabschnürung dabei entdecken. Die einzige Erscheinung, welche entfernt an eine Hefeabschnürung im ersten Augenblicke erinnern konnte, war die ovale Sproßanlage eines Seitenzweiges in seinem jüngsten Zustande; doch wuchs sich dieses hefeähnliche Gebilde immer wieder zu einem Zweigsystem aus. Es muß übrigens entschieden auffallen, daß Dr. Eckenroth keine genaue Abbildung der Abschnürung von Hefezellen an den Mycelästen, des

---

1) Centralbl. f. Bakt. und Parasitenk. II. Abt. Bd. I. No. 15 und 16.

2) Ibid. No. 15 und 16. p. 531. Abs. 2.

3) Centralbl. f. Bakt. und Parasitenk. No. 15 u. 16. II. Abt. Bd. I.

4) Bot. Untersuch. über die Alkoholgärungspilze v. Dr. M. Reefs. p. 47 oben und die Mikroorganismen der Gärungsindustrie v. Alfred Jörgensen. p. 77 oben.

5) Centralbl. No. 15 und 16. II. Abt. Bd. I. p. 531. Absatz 6.

entscheidenden Momentes, bringt, zumal er diesen Vorgang in der feuchten Kammer beobachtet hat und auch verschiedene andere Zeichnungen aufführt. Auf Seite 535. Absatz 4 lesen wir weiter: „Es erscheint notwendig, die ganze Entwickelung dieser Pilze an den Trauben selbst zu verfolgen und zu studieren, da es sich gezeigt hat, daß durch viele Umpflanzung derselben die Neigung vorhanden ist, in gewöhnliche Schimmelvegetationen zurückzugehen und das Vermögen, Hefe- und Torulazellen zu bilden, nach und nach gänzlich verschwindet."

Was die häufige Umpflanzung anbelangt, so kann der Pilz dadurch meiner Meinung nach nur immer reiner werden und scheint mir beim Erhalten von Hefe- und Torulazellen stets eine Verunreinigung mit letzteren vorzuliegen, wenigstens konnte ich nie solche erhalten, wenn ich eine Reinkultur des Hefepenicillium auf sterilen Trauben wachsen ließ und dann mikroskopierte. Eine weitere Angabe[1]): „Und entwickelte sich unser beobachtetes Penicillium in allen seinen Variationen überhaupt nur an und in sauren Substraten", kann ich ebenfalls nicht bestätigen, da es mir möglich war, das erhaltene Material ebenso leicht auf alkalischer, ungehopfter Würzegelatine, wie auf alkalischer Mostgelatine zu züchten, wobei dieselbe rasche Verflüssigung des Substrates wie bei Dematium eintrat. Während meiner Untersuchungen fand ich ferner zufällig, daß die Konidien des Hefepenicillium, ebenso wie diejenigen von Aspergillus Oryzae[2]), scheinbar in großer und kleiner Form auskeimen können, wenigstens traf ich in verflüssigter Strichkultur von ungehopfter Würzegelatine Konidien, welche die gewöhnliche kleine Form etwa um das 4-fache übertrafen und beim Auskeimen zum selben Pilze heranwuchsen. Professor Reeß berichtet auch in seinen „Botanischen Untersuchungen über die Alkoholgärungspilze". p. 47, daß die Konidien von Penicillium glaucum vor dem Auskeimen auf das Doppelte und Dreifache anschwellen können, da übrigens damals Penicillium glaucum auch als Hefebildner hingestellt worden war. Eine genaue botanische Bestimmung des Hefepenicillium Eckenroth war mir, trotz eingehender Beobachtungen, vorläufig nicht möglich, zumal mir bisher keine geschlechtliche Fortpflanzung zu Gesichte kam. Wie Eckenroth selbst sagt[3]), ist sein Pilz mit Penicillium cladosporioïdes nicht identisch, während gegen Penicillium glaucum der kleinere, zierlichere Habitus spricht.

Da ich also, wie gesagt, absolut keine Hefeabschnürung entdecken konnte, fällt jedes weitere Eingehen auf die von Eckenroth erhaltenen zwei Torulaarten von selbst weg. Jörgensen und Eckenroth scheinen übrigens beide der Ansicht zu sein, daß sich die von ihnen beobachtete Umwandlung von Schimmelpilz in Hefe jedes Jahr auf den Trauben von neuem abspielt, eine Annahme, welche doch noch erwiesen werden müßte.

---

1) Centralbl. f. Bakt. und Parasitenk. II. Abth. Bd. I. No. 15/16. p. 535. Abs. 3.

2) Ibid. No. 6. p. 214. Abs. 3. C. Wehmer: Aspergillus Oryzae, der Pilz der japanischen Saké-Brauerei.

3) Ibid. No. 15/16. p. 535. Absatz 7.

Nach meinen Untersuchungen glaube ich also dargelegt zu haben, daß die Abstammung der Saccharomyceten von Schimmelpilzen bis heute keineswegs feststeht und wir uns nach dem Angeführten eher für die entgegengesetzte Annahme entscheiden müssen, doch ist immerhin die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß die Hefearten aus einer mit der Zeit ausgestorbenen Pilzgattung hervorgegangen sein könnten. Sollte aber wirklich einmal eine Ableitung der Hefen von den Schimmelpilzen gelingen, so wäre dieselbe nach Dr. Prior's Ansicht, wie sie auch Professor Reeß schon angiebt [1]), nur in der Weise möglich und definitiv entscheidend, wenn man Sproßzellen eines Schimmelpilzes, die untergetaucht sich vermehren und Alkoholgärung hervorbringen (z. B. Mucor), längere Zeit, vielleicht Jahrzehnte hindurch in einer zuckerhaltigen Flüssigkeit unter gewissen Bedingungen so lange züchten würde, bis dieselben eine Mycelbildung vollständig aufgegeben hätten und sich deren neu aufgezwungene Eigenschaft in ähnlicher Weise, wie Professor Hansen dies bei der Züchtung von Hefevarietäten öfter gelungen ist [2]), als vollkommen vererblich erwiese. Allerdings müßte eine spätere Ausbildung von Endosporen bei derartigen sprossenden Zellen noch hinzutreten.

Eine weitere ausführlichere Bearbeitung des hier behandelten Themas, nebst den fehlenden Abbildungen und Studien über *Saccharomyces octosporus* wird später als Promotionsarbeit erscheinen.

Mitteilungen aus der vom kgl. bayer. Staate subv. Versuchsstation für Bierbrauerei zu Nürnberg.

Die Beziehungen des osmotischen Druckes zu dem Leben der Hefe und den Gärungserscheinungen.

Von

E. Prior.

Die Assimilation und damit auch die chemische Umsetzung der Nährstoffe, sowie die Spaltung der Kohlehydrate durch die Hefen haben in der Wechselwirkung zwischen Zelle und Nährflüssigkeit ihre Ursache und sind ohne eine solche nicht denkbar.

Die grundlegenden und bahnbrechenden Untersuchungen von M. Traube [3]), W. Pfeffer [4]) und de Vries [5]) beweisen unzweifelhaft, daß osmotische Vorgänge in dem Leben der Organismen eine

1) Botanische Untersuchungen über die Alkoholpilze. p. 59 unten und 60.

2) Vergl. Experimentelle Studien über die Variation von Hefezellen von Emil Chr. Hansen. Uebersetzung aus dem Englischen von Dr. Bühler in No. 9 und 10 des Bayerischen Brauer-Journals. 1896.

3) Archiv für Anatomie und Physiologie. 1867. 87.

4) Osmotische Untersuchungen. Leipzig 1877.

5) Pringsheim's Jahrbücher für wissenschaftl. Botanik. 1884. 14. p. 427.

große Rolle spielen, daß insbesondere die Zufuhr der Nährstoffe in das Innere der Zellen, sowie die Ausscheidung der in den Zellen gebildeten Stoffwechselprodukte nach osmotischen Gesetzmäßigkeiten erfolgen.

Aus den Arbeiten der genannten Forscher, vornehmlich aber aus den exakten Untersuchungen Pfeffer's, folgt ferner, daß die Wechselwirkungen zwischen Zellinhalt und Nährflüssigkeit, welche in der Endosmose von Nährstoffen in das Zellinnere und Exosmose von Zellbestandteilen in die Nährflüssigkeit bestehen, durch die osmotische Druckdifferenz zwischen Zellinhalt und Nährflüssigkeit, welche sich auszugleichen strebt, zu stande kommen, durch diese geregelt werden und so lange andauern, als Druckdifferenzen bei Gegenwart diosmierender Substanzen vorhanden sind.

Das Verdienst, die Gesetze des osmotischen Druckes, welche in den Arbeiten der oben genannten Forscher ihre experimentelle Bestätigung finden, erkannt zu haben, gebührt van't Hoff[1]).

Nach van't Hoff ist der osmotische Druck, ebenso wie die Spannkraft oder der Druck der Gase, kinetischer Natur. Die Gesetze, welche für die Gase Giltigkeit besitzen, das Boyle'sche und Gay-Lussac'sche Gesetz, sowie die Hypothese von Avogadro, gelten daher auch im wesentlichen für den osmotischen Druck.

In den nachstehenden Betrachtungen wird der Versuch gemacht, die Gesetze des osmotischen Druckes zu dem Leben der Hefe und den Gärungserscheinungen in Beziehung zu bringen und zu zeigen, daß viele Erscheinungen in dem Leben der Hefe, welche wir bislang nicht zu erklären vermögen und die auf rein chemischem Wege nicht zu erklären sind, mit Berücksichtigung der Gesetze des osmotischen Druckes in ungezwungener Weise eine Erklärung finden.

Die in den Maischen und der Bierwürze enthaltenen, für die Ernährung der Hefe indifferenten Verbindungen, d. h. solche Substanzen, aus welchen die Hefe keine neuen Zellen aufzubauen und die sie auch nicht zu vergären vermag, werden meist als einflußlos auf den Verlauf der Gärung angesehen.

Diese indifferenten Bestandteile der Bierwürze, soweit solche bekannt sind, gehören teils zu den Eiweißkörpern, teils zu den Kohlehydraten. Zu den ersteren zählt das nicht diffundierbare Eiweiß, zu den letzteren die Pentosane, nämlich das Galaktoxylan Lintner's, die Amylane von O'Sullivan und ein noch nicht näher definiertes Gummi, das Morris in dem vergorenen Würzeextrakt unter dessen reduzierenden Bestandteilen nachgewiesen hat. Ferner verhalten sich während der Gärung indifferent die Achroodextrine I und II von Lintner und Düll, das Erythrodextrin, welches in nicht ganz vollständig verzuckerten Würzen angetroffen wird, und endlich die unvergärbaren, zum Teil beim Darren des Malzes, zum Teil beim Kochen der Maischen und Würzen gebildeten, in den Farbmalzen und dem Karamelmalz in erheblicher Menge enthaltenen karamelartigen Verbindungen, welche man unter dem gemeinsamen Namen „Röst-

1) Zeitschrift für physik. Chemie. 1887. I. p. 481.

produkte" zusammenfaßt. Wahrscheinlich gehören zu den indifferenten Körpern in gärungsphysiologischem Sinne auch die Pektinstoffe Ullik's.

Die erwähnten unvergärbaren Würzebestandteile — jedenfalls gilt dies für das Eiweiß, die Pentosane, das Erythrodextrin und die höheren Achroodextrine — vermögen die Membran der meisten Hefezellen nicht zu durchdringen. Diese verhält sich daher den genannten Stoffen gegenüber als „halbdurchlässige Wand", für welche die oben erwähnten van't Hoff'schen Gesetze und Theorieen des osmotischen Druckes Geltung besitzen.

Da sich der osmotische Druck einer in Lösung befindlichen Substanz zur Konzentration direkt, zum Volumen umgekehrt proportional verhält, folgt, daß der osmotische Druck eines indifferenten Würzebestandteiles auf die Zellmembran um so größer ist, je mehr die Würze davon enthält.

Der von gleichen Gewichtsmengen bewirkte osmotische Druck verschiedener Substanzen ist aber verschieden und verhält sich umgekehrt wie die Molekulargewichte, oder mit anderen Worten, der osmotische Druck eines jeden Moleküles der verschiedenen löslichen Körper ist gleich, woraus wiederum folgt, daß gleiche Gewichtsmengen verschiedener Substanzen mit gleichem Molekulargewicht in Lösungen den nämlichen osmotischen Druck bewirken.

Nachdem von den aufgeführten indifferenten Stoffen nur die Molekulargewichte der Dextrine mit einiger Sicherheit bekannt sind und diese Körper die Hauptmenge der unvergärbaren Würzebestandteile ausmachen, können vorläufig nur diese Berücksichtigung finden.

Die relative Größe des osmotischen Druckes der drei Dextrine steht im umgekehrten Verhältnis ihrer Molekulargewichte:

Erythrodextrin = 5850
Achroodextrin I = 1962
Achroodextrin II = 980

Diese Dextrinmengen bewirken also in Lösungen gleichen osmotischen Druck. Hieraus berechnet sich der relative osmotische Druck für gleiche Gewichtsteile dieser Dextrine, den Druck von 1 Gewichtsteil Erythrodextrin = 1 gesetzt:

für Erythrodextrin 1,000
„ Achroodextrin I 2,982
„ Achroodextrin II 5,969

Aus diesen Zahlen geht hervor, daß der osmotische Druck von Achroodextrin II doppelt so groß ist, als der von derselben Menge Achroodextrin I ausgeübte und 6 mal mehr beträgt, als der von Erythrodextrin bewirkte.

Wenn man berücksichtigt, daß sich mit der Beschaffenheit des Malzes und dem angewandten Maischverfahren sowohl die absoluten Mengen der unvergärbaren Dextrine als auch das Verhältnis derselben zu einander in den Würzen ändern, so ergiebt sich, daß auch der osmotische Druck der indifferenten Stoffe mit der Zusammensetzung der Würze wechselt. Der osmotische Druck der unvergärbaren Würzebestandteile kann aber nach den angeführten Gesetz-

mäßigkeiten nicht aus ihrer Gesamtmenge, sondern nur aus der absoluten Menge der einzelnen Dextrine berechnet werden, wie folgende Beispiele zeigen.

Angenommen, der auf die nicht vergärbaren Dextrine treffende Extraktanteil sei in zwei aus verschiedenen Malzen bereiteten Würzen gleich und es enthalte jede der vergorenen Würzen in 100 ccm 6 g Dextrin, jedoch Würze I 5 g Achroodextrin I und 1 g Achroodextrin II, während in Würze II von jedem der beiden Dextrine 3 g enthalten seien. Eine dritte Würze enthalte aber 7 g unvergärbare Dextrine, nämlich 5 g Achroodextrin I und 2 g Achroodextrin II. Der relative osmotische Druck der drei Würzen berechnet sich demnach wie folgt:

Für Würze I.

5 g	Achroodextrin I	= 5 × 2,982 =	14,910
1 „	„ II	= 1 × 5,969 =	5,969
		Summa	20,879

Für Würze II.

3 g	Achroodextrin I	= 3 × 2,982 =	8,946
3 „	„ II	= 3 × 5,969 =	17,907
		Summa	26,853

Für Würze III.

5 g	Achroodextrin I	= 5 × 2,982 =	14,910
2 „	„ II	= 2 × 5,969 =	11,938
		Summa	26,848

Danach kann der osmotische Druck gleicher Mengen der indifferenten Würzebestandteile verschieden und bei verschiedenem Gehalt an indifferenten Substanzen gleich sein.

Der auf die unvergärbaren Bestandteile treffende osmotische Druck einer Würze ist vor und ebenso während des ganzen Verlaufes der Gärung konstant, da derselbe von dem Lösungsmittel nicht beeinflußt wird und diese Körper während der Gärung nicht verändert und nicht vergoren werden.

Ich bezeichne denselben in der Folge als „osmotische Druckkonstante der Würze“, worunter also der gesamte, auf die *für die Ernährung der Hefe indifferenten Würzebestandteile* vor, während und nach der Gärung treffende, konstant bleibende osmotische Druck zu verstehen ist.

Der oben für die drei Würzen berechnete osmotische Druck repräsentiert danach die relativen „osmotischen Druckkonstanten“.

Die in der Würze enthaltenen Hefenährstoffe, für welche die Zellmembran, dem Diffusionsvermögen der Nährstoffe entsprechend, mehr oder weniger durchlässig ist, kommen bei der Berechnung des osmotischen Druckes der Würze ebenfalls in Betracht. Auch für diese gelten die Gesetze des osmotischen Druckes, jedoch mit der Einschränkung, daß der auf die diosmierenden Stoffe treffende osmotische Würzedruck im Verlauf der Gärung, gemäß der Menge des von der Hefe assimilierten Anteils dieser Substanzen, immer mehr abnimmt. Den

auf diese eigentlichen Hefenährstoffe treffenden osmotischen Druckanteil der Würze bezeichne ich deshalb als „osmotische Druckvariabele“.

Auch diese ist je nach der Zusammensetzung der Würzen verschieden. Die osmotische Druckvariabele wird, wenn man von den stickstoffhaltigen Nährstoffen und Mineralbestandteilen der Würze absieht, von den Zuckerarten und vergärbaren Dextrinen veranlaßt. Als solche kommen Maltose, Rohrzucker, Dextrose, Lävulose und das von mir kürzlich nachgewiesene vergärbare Achroodextrin III[1]) in Betracht. Nach dem oben Gesagten beträgt der relative osmotische Druck der vergärbaren Kohlehydrate, Erythrodextrin = 1 gesetzt, für je ein Gewichtsteil:

	Molekulargewicht	Relat. osm. Druck
Maltose ($C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$)	360	16,250
Rohrzucker ($C_{12}H_{22}O_{11}$)	342	17,105
Dextrose ($C_6H_{12}O_6 + H_2O$)	198	29,545
Lävulose ($C_6H_{12}O_6$)	180	32,500
Achroodextrin III [$(C_{12}H_{20}O_{10})_2 + H_2O$]?[2])	666	8,783

Ein Vergleich der Zahlen mit den oben für die unvergärbaren Dextrine berechneten lehrt, daß der osmotische Druck von Lösungen gleicher Gewichtsteile vergärbarer Kohlehydrate denjenigen der unvergärbaren ganz außerordentlich übertrifft. Zum besseren Verständnis sei der osmotische Gesamtdruck einer Würze, welcher sich nach obigem aus der Summe der osmotischen Druckkonstante und der osmotischen Druckvariabelen zusammensetzt, berechnet. Die Kohlehydrate der betreffenden Würze, von den Pentosanen abgesehen, mögen zusammen 12 Proz. betragen, hiervon sollen treffen:

auf Maltose	6,0	Proz.
„ Rohrzucker	0,4	„
„ Dextrose	0,1	„
„ Lävulose	0,1	„
„ Achroodextrin III	2,0	„
„ „ II	1,0	„
„ „ I	2,4	„

Hieraus berechnen sich:

I. Die relative osmotische Druckvariabele:

für Maltose	= 6 × 16,250	=	97,500
„ Rohrzucker	= 0,4 × 17,105	=	6,842
„ Dextrose	= 0,1 × 29,545	=	2,9545
„ Lävulose	= 0,1 × 32,500	=	3,250
„ Achroodextrin III	= 2,0 × 8,783	=	17,566
	Summa		128,1125

1) Bayer. Brauer-Journal. VI. p. 157. Diese Zeitschr. 1896. 2. Abt. Bd. I. p. 271.

2) Die Formel dieses Dextrins ist noch nicht festgestellt und wurde deshalb die von Lintner und Düll für ein mögliches drittes Achroodextrin eingesetzt, um mit diesem Würzebestandteil, dessen osmotischer Druck unter allen Umständen viel geringer als derjenige des Zuckers, aber erheblich höher als derjenige der höheren Dextrine ist, rechnen zu können.

II. Die relative osmotische Druckkonstante:

für Achroodextrin	II	$= 1 \times 5{,}969 =$	5,969
„ „	I	$= 2{,}4 \times 2{,}982 =$	7,157
		Summa	13,126

Ein Blick auf die Zahlen lehrt, daß die osmotische Druckvariabele nahezu 10mal größer ist als die Druckkonstante.

Der osmotische Druck einer Rohrzuckerlösung ändert sich und wird etwa doppelt so hoch, sobald der Rohrzucker hydratiert ist, da ein Gewichtsteil Rohrzucker einem relativen Druck von 17,105, die daraus entstandene Dextrose und Lävulose, nämlich 0,574 Dextrose und 0,526 Lävulose, aber einem solchen von 16,959 + 17,095 = 34,054 entsprechen.

Eine ähnliche Erhöhung des osmotischen Druckes findet auch bei der Hydrolyse der Maltose statt. Der relative osmotische Druck von 1 Gewichtsteil Maltose beträgt 16,250, während die entstandene Dextrosemenge einem relativen osmotischen Druck von 32,5 entspricht.

Man ersieht hieraus, daß durch die Enzymwirkungen der osmotische, auf die Biosen treffende Druckanteil eine Verdoppelung erfährt.

Ebenso wie die Nährflüssigkeit übt auch der Zellinhalt einen osmotischen Druck aus, da sich die Membran den darin in Lösung befindlichen Stoffen gegenüber wie eine halb durchlässige Wand verhält. Auch die in dem Zellinhalt gelösten Stoffe lassen sich in solche, welche einen veränderlichen und solche, die einen konstanten osmotischen Druck bewirken, einteilen. Letzterer wird aber nicht so konstant sein, wie die osmotische Druckkonstante der Würze, weil anzunehmen ist, daß die Menge der nicht diosmierenden Bestandteile des Zellinhaltes zwar nicht sehr bedeutend, aber doch in verschiedenen Phasen des Hefelebens wechselt.

Der variabele osmotische Druck des Zellinhaltes wird teils durch assimilierte Nährstoffe aus der Würze, teils durch Bestandteile des Zellinhaltes bewirkt. Durch Hydrolyse der assimilierten Biosen findet, wie obige Rechnung lehrt, eine außerordentliche Zunahme des osmotischen Druckes des Zellinhaltes statt.

Diese Betrachtungen zeigen, daß die Differenz zwischen dem osmotischen Druck des Zellinhaltes und der Würze im Verlauf der Gärung wechselt, jedoch wird diese Differenz mit dem Fortschreiten der Gärung immer kleiner. Ob dieselbe am Ende der Gärung gleich Null, d. h. ob nach beendeter Gärung die Nährlösung isotonisch geworden ist, mag dahingestellt bleiben. Sicher ist aber, daß, von anderen Umständen[1]) abgesehen, die Intensität der Gärung mit Abnahme der vergärbaren Würzebestandteile, also mit Abnahme des osmotischen Druckes der Nährlösung, nachläßt.

Wenn schon die obigen allgemeinen Mitteilungen zeigen, daß der osmotische Druck des Zellinhaltes und der Nährflüssigkeit im Verlaufe der Gärung erheblichen Schwankungen unterworfen sind, welche auf so feinfühlige Organismen wie die Saccharomyceten, sowie auf

1) Siehe meine diesbezüglichen Abhandlungen über die Erklärung der Gärungserscheinungen. (Diese Zeitschr. 2. Abt. Bd. I. p. 373, 442.)

den Verlauf der Gärung nicht ohne Einfluß sein können, so ergiebt sich das noch in weit höherem Maße bei näherer Betrachtung der einzelnen Erscheinungen.

C. v. Nägeli[1]) hat beobachtet, daß das Volumen der Hefezelle in konzentrierten Zuckerlösungen erheblich vermindert wird und de Vries[2]) hat auf die Veränderungen, welche die Pflanzenzelle durch Differenzen im osmotischen Drucke der sie umgebenden Flüssigkeit erleidet, eine Methode der Molekulargewichtsbestimmung aus dem osmotischen Druck basiert.

Nach den Mitteilungen dieser beiden Forscher dürfte es keinem Zweifel unterliegen, daß der osmotische Druck der Nährflüssigkeit, welcher, der Höhe dieses Druckes entsprechend, kleinere oder größere Aenderungen in dem Volumen der Zelle bewirkt, auf die vegetative Thätigkeit nicht einflußlos sein kann und zwar deshalb nicht, weil bei höherem Druck der Wasserstrom und damit auch die Exosmose der diosmierenden Zellenbestandteile zunimmt und die Druckdifferenz sich auszugleichen strebt, was wiederum Endosmose von diffundierbaren Bestandteilen aus der Nährflüssigkeit in das Zellinnere nach sich zieht. Auch die Beweglichkeit des Plasmas kann, wie ich unten zeigen werde, eine Einbuße erleiden. Der Einfluß der osmotischen Druckkonstante auf den Vegetationszustand der Hefe wird sich, da die osmotische Druckvariabele im Anfang der Gärung die Konstante um ein Bedeutendes übertrifft, mehr am Ende der Gärung, als zu Anfang derselben bemerkbar machen, nämlich dann, wenn die osmotische Druckkonstante gleich oder größer als die Variabele geworden ist.

Bekanntlich nehmen die Hefezellen oft ganz verschiedene Formen an, weshalb man, worauf Hansen ja stets aufmerksam gemacht hat, aus der Form keinen Schluß auf die Art ziehen kann. Es ist sehr wahrscheinlich, daß diese Formänderungen der Zelle zum Teil mit den osmotischen Druckdifferenzen im Zusammenhange stehen. Dafür sprechen die veränderten Formen, welche die Hefezellen annehmen, wenn sie längere Zeit mit der vergorenen Flüssigkeit, z. B. dem lagernden Biere, in Berührung waren.

Nach den Versuchen von Ad. J. Brown[3]) verläuft die Vergärung in 5—20-proz. Dextroselösungen bei gleicher Hefeaussaat mit nahezu gleicher Intensität, während Dextroselösungen unter 5 Proz. und solche von 30 Proz. träger vergären. Dieses unterschiedliche Verhalten ist offenbar darauf zurückzuführen, daß bei den schwächeren Lösungen weniger Zucker in der Zeiteinheit diosmiert, als die Zelle zu assimilieren und zu vergären vermag, während in den 30-proz. Lösungen in Folge des sehr hohen osmotischen Druckes — der relative osmotische Druck pro 100 Gewichtsteile Lösung berechnet sich zu 886,35 — die Beweglichkeit des Plasmas durch Veränderung des Zellvolumens eine Einbuße und der Zellinhalt durch Entzug von

1) Theorie der Gärung. p. 30.
2) Pringsheim's Jahrbücher. 1884. 14. p. 427.
3) Handbuch der Brauwissenschaft. p. 245.

Wasser und diosmierbaren Stoffen in seiner normalen Zusammensetzung erhebliche Aenderungen erleidet.

Durch Versuche von O. Sullivan und Andern, welche ich auf Grund eigener Versuche zu bestätigen in der Lage bin, ist festgestellt, daß bei der Vergärung von Invertzucker Dextrose und Lävulose nebeneinander vergoren werden und daß anfangs, so lange ebensoviel Dextrose als Lävulose vorhanden ist, mehr von ersterer als von letzterer in der Zeiteinheit vergärt, daß aber mehr Lävulose als Dextrose vergoren wird, sobald die Lävulose in einem gewissen Ueberschusse vorhanden ist.

Nach den obigen Berechnungen steht der relative osmotische Druck von Dextrose zu Lävulose im Verhältnis von 29,545 zu 32,500; der Unterschied ist somit nicht groß, doch ist der von der Lävulose ausgeübte osmotische Druck eine Kleinigkeit höher. Wenn trotzdem bei Anwesenheit gleicher Teile der beiden Zucker mehr Dextrose als Lävulose vergärt, so beweist dies, daß die Dextrose leichter diosmiert als jene. Ueberwiegt aber infolge des Verschwindens von Dextrose der von der Lävulose herrührende osmotische Druck denjenigen des Dextroserestes um eine gewisse Größe, so diosmiert und vergärt mehr Lävulose als Dextrose.

Nach meinen Versuchen wurden aus einer Lösung in Hefewasser, welche 7,276 g Invertzucker, oder 3,6101 g Dextrose + 3,666 g Lävulose in 100 ccm enthielt und mit einer Spur Hefe versetzt worden war, vergoren durch Hefe L:

	Dextrose	Lävulose
Innerhalb 12 Stunden	0,1111 g	0,020 g
„ der 12. und 24. Stunde	1,090 „	0,539 „
„ des 1. „ 2. Tages	1,735 „	1,480 „
„ „ 2. „ 3. „	0,619 „	1,387 „
„ „ 3. „ 4. „	0,055 „	0,240 „

Hiernach wurde vom 2. Tage ab mehr Lävulose als Dextrose vergoren. Aus den Zahlen berechnet sich, daß am Ende des 2. Tages 0,674 g Dextrose und 1,627 g Lävulose, am Ende des 3. Tages 0,055 g Dextrose und 0,240 g Lävulose vorhanden waren.

Der relative osmotische Druck betrug demnach am Ende des 2. Tages:

Für 0,674 g Dextrose = 19,913
„ 1,627 „ Lävulose = 52,878

Am Ende des 3. Tages:

Für 0,055 g Dextrose = 1,625
„ 0,240 „ Lävulose = 7,800

Die Hefe L gehört zu den nieder vergärenden Heferassen vom Typus Saaz, ihr Durchlässigkeitsvermögen ist erheblich geringer als dasjenige der Hefen vom Typus Frohberg. Ist diese Annahme richtig, so müssen bei der Vergärung von Invertzucker die Frohberghefen von vornherein in der Zeiteinheit mehr Lävulose neben Dextrose, in der ersten Zeit natürlich auch mehr von der letzteren, vergären als die Hefen Saaz, und die vollständige Vergärung muß

schneller beendet sein. Auch wird das Verhältnis der osmotischen Druckdifferenz von Dextrose zu Lävulose in dem Zeitpunkt, von welchem ab mehr Lävulose als Dextrose vergärt, bei Hefe Frohberg geringer sein müssen.

Ein mit der nämlichen Invertzuckerlösung angestellter Gärversuch, in welchem die Hefe A vom Typus Frohberg verwendet wurde, bestätigt dies.

Es waren vergoren durch Hefe A:

	Dextrose	Lävulose
Am Ende des 1. Tages	1,366 g	0,806 g
Demnach vorhanden .	2,244 „	2,860 „
Vergoren sind:		
Vom 1. bis 2. Tag . .	1,795 g	1,982 g
„ 2. „ 3. „ . .	0,449 „	0,878 „

Der relative osmotische Druck betrug somit in dem Zeitpunkt, von welchem an mehr Lävulose als Dextrose vergoren wurde, also am Ende des ersten Tages:

Für 2,244 g Dextrose = 66,299
„ 2,860 „ Lävulose = 92,950

Am Ende des 2. Tages:

Für 0,449 g Dextrose = 13,266
„ 0,878 „ Lävulose = 28,535

Aus diesen Zahlen berechnet sich das Verhältnis des relativen osmotischen Druckes von Dextrose : Lävulose (Dextrose = 1):

Für Hefe L:

Am Ende des 2. Tages = 1 : 2,655
„ „ „ 3. „ = 1 : 4,800

Für Hefe A:

Am Ende des 1. Tages = 1 : 1,470
„ „ „ 2. „ = 1 : 2,157

Diese Zahlen beweisen, daß bei der Vergärung von Invertzucker der osmotische Druck der Lävulose denjenigen der Dextrose in dem Zeitpunkt, von welchem ab mehr Lävulose als Dextrose vergoren wird

bei Hefe L am Ende des 2. Tages um das $2\,{}^1/_2$ fache,
„ „ A „ „ „ 1. „ „ „ $1\,{}^1/_2$ „

übertrifft.

In dem letzten Stadium der Gärung, wenn nur noch wenig Zucker vorhanden ist, übertrifft der osmotische Druck der Lävulose denjenigen der Dextrose

bei Hefe L am Ende des 3. Tages um nahezu das Fünffache,
„ „ A „ „ „ 2. „ „ das Doppelte.

Diese Versuche rechtfertigen folgende Schlüsse:

1) Bei Anwesenheit von verschieden diosmierenden, nebeneinander vergärenden Kohlehydraten vergärt nur dann von den schwieriger diosmierenden mehr in der Zeiteinheit, wenn der von den letz-

letzteren bewirkte osmotische Druckanteil der Nährflüssigkeit größer geworden ist, als derjenige der leichter diosmierenden.

Das Verhältnis des relativen osmotischen Druckes der leicht diosmierenden zu den schwierig diffundierenden nimmt mit der Abnahme der vergärbaren Kohlehydrate der Flüssigkeit zu.

2) Bei der Vergärung von zwei oder mehr verschieden diosmierenden Kohlehydraten nebeneinander durch Hefen von verschiedenem Durchlässigkeitsvermögen ist das Verhältnis des osmotischen Druckes der leicht vergärbaren zu den schwer vergärbaren Kohlehydraten der Nährlösung in dem Zeitpunkt, von welchem ab mehr schwierig diosmierende Kohlehydrate als leicht diosmierende vergoren werden, größer bei Hefen mit dichterer Zellmembran als bei solchen mit größerem Durchlässigkeitsvermögen.

3) Bei der Vergärung von leicht und schwierig diosmierenden Kohlehydraten nebeneinander hemmt das schwieriger diosmierende die Vergärung des leichter diosmierenden und zwar um so mehr, je höher der osmotische Druckanteil des schwieriger diosmierenden gegenüber dem des leicht diffundierenden Kohlehydrates ist.

Bei der Vergärung der verhältnismäßig sehr leicht diosmierenden Zucker für sich allein oder in Mischung mit einander ist der osmotische Druck nur insofern von Bedeutung, als hierdurch das Verhältnis der Vergärung der einzelnen Zucker zu einander geregelt wird und die Vergärung eine Beschleunigung oder Verlangsamung erfährt, dagegen ist der osmotische Druck, wenn die sonstigen Bedingungen günstige sind, auf die vollständige Vergärung einflußlos, weil die Membran für die Zucker sehr durchlässig ist, die Zucker leicht gespalten werden und die kleinsten Mengen davon zur Unterhaltung der Gärung genügen.

Reine Dextrose-, Lävulose-, Rohrzucker- und Maltoselösungen in Hefewasser werden daher sowohl für sich als auch in ihren Mischungen durch alle Hefen, welche diese Zucker zu vergären vermögen, unter günstigen Bedingungen vollständig vergoren.

Anders hingegen verhalten sich die Zucker bei Anwesenheit schwierig diosmierender und vergärbarer oder schwierig diosmierender und nicht vergärbarer oder nicht diosmierender und nicht vergärbarer Kohlehydrate, also in Lösungen, wie sie durch Einwirkung von Diastase auf Stärke oder durch Vermaischung von Malz erhalten werden. Wenn auch Hefen mit hohem Durchlässigkeitsvermögen die genannten leicht diosmierenden Zucker in solchen Flüssigkeiten vollständig vergären können, so gilt dies für andere, z. B. die Saazer Hefen, nicht. Diese hinterlassen nach den übereinstimmenden Beobachtungen aller Forscher einen unvergorenen Zuckerrest, welcher, wie wir jetzt wissen, Maltose ist und in der vergorenen Flüssigkeit mit dem anwesenden Dextrin durch Phenylhydrazin als sogenanntes Isomaltosazon nachgewiesen wird.

Diese Thatsache deutet darauf hin, daß, ähnlich wie das oben bei der Vergärung von Invertzucker für die schwieriger diosmierende Lävulose gezeigt wurde, auch das schwierig vergärende Achroo-

dextrin III die Vergärung der leicht diosmierenden Zucker hemmt; es wird aber deren vollständige Vergärung, wenn die Bedingungen nicht außerordentlich günstige sind, verhindern.

Um das verstehen zu können, ist es notwendig, daran zu erinnern, daß das schwierig diosmierende Achroodextrin III für sich allein weder von den Hefen Saaz noch Frohberg vollständig, jedoch von letzterer mehr als von Saaz vergoren wird. Hieraus folgern zu wollen, Achroodextrin III sei deshalb kein einheitlicher Körper, wäre nur dann gerechtfertigt, wenn die unvergorenen Anteile der beiden Hefen verschiedenes Drehungs- und Reduktionsvermögen besäßen.

Es giebt demnach Kohlehydrate, welche schwierig und unvollständig vergären, weil sie durch die Zellmembran nur schwierig diosmieren. Nun lehren aber die Untersuchungen Pfeffer's, und die eben mitgeteilten Thatsachen bestätigen es, daß die Diosmose eines Körpers durch Erhöhung des osmotischen Druckes beschleunigt, durch Erniedrigung desselben verlangsamt wird. Daraus folgt, daß bei den schwierig diosmierenden Substanzen ein gewisser osmotischer Druck vorhanden sein muß, um Membranen von gewisser Dichte überhaupt passieren zu können, und daß Endosmose nicht mehr stattfindet, wenn der osmotische Druck unter eine gewisse Grenze gesunken ist. Die Größe des osmotischen Druckes, bei welchem noch Diffusion stattfindet, hängt von der Beschaffenheit der Membran ab, wodurch es sich erklärt, warum die Hefen Saaz mit dichterer Membran weniger von den schwieriger diosmierenden Kohlehydraten vergären als die Hefen Frohberg und letztere wieder weniger als die Hefe Logos, deren Membran noch durchlässiger ist als die von Frohberg.

Der unvergoren bleibende Kohlehydratrest wird daher bei Saaz am größten, bei Logos am geringsten sein oder gärungstechnisch ausgedrückt, der Endvergärungsgrad der verschiedenen Hefen oder gleicher Hefen in verschiedenem Vegetationszustande hängt von der Dichte der Zellmembran ab und wird von dieser bestimmt, vorausgesetzt, daß die Hefen die betreffenden Kohlehydrate überhaupt zu vergären vermögen.

Ein Kohlehydrat kann daher gewissen Hefen gegenüber eine osmotische Druckkonstante sein, während es bei anderen eine osmotische Druckvariabele der Würze bildet. Aber auch bei der nämlichen Hefe kann dies sehr wohl der Fall sein, da die Dichte der Membran mit dem Alter, dem Vegetationszustande und Bedingungen wechselt. Die Vergärung eines Kohlehydrates unter gewissen Bedingungen hängt deshalb durchaus nicht allein davon ab, ob dasselbe überhaupt von der Hefe vergoren wird, sondern es wird, insofern es vergärbar ist, nur dann vergoren werden, wenn in erster Linie die osmotischen Verhältnisse günstig sind.

Wenn in einer Nährlösung von dem schwierig vergärbaren Achroodextrin III nicht so viel vorhanden, d. h. wenn der von ihm ausgeübte osmotische Druck nicht so groß ist, daß es durch die be-

treffende Zellmembran zu diosmieren vermag, so verhält sich das Achroodextrin III wie ein nicht diosmierender Körper und ist, ebenso wie dieser, innerhalb gewisser Grenzen auf die vollständige Vergärung der leicht diosmierenden Zucker einflußlos, was aber selbstverständlich einen Einfluß der osmotischen Druckkonstante, welche sich in diesem Falle um den Anteil des nicht mehr diosmierenden Achroodextrin III-Restes erhöht, auf die Intensität der Vergärung der leicht diosmierenden Zucker und den Vegetationszustand der Hefe nicht ausschließt.

Der geschilderte Zustand kann in einer Nährlösung, welche so viel Achroodextrin III enthält, daß dasselbe infolge seines osmotischen Druckes zu diosmieren, also auch zu vergären vermag, nicht ganz erreicht werden, weil die Gärung schon aufhört, wenn nicht mehr so viel Achroodextrin diosmiert, als zur Unterhaltung der Gärung erforderlich ist. Es wird demnach am Ende der Gärung, der Dichtigkeit der Zellmembran entsprechend, außer dem obigen noch ein weiterer, größerer oder kleinerer Achroodextrinrest vorhanden sein, welchem ein korrespondierender osmotischer Druck zukommt.

Diosmose von Achroodextrin findet aber nicht mehr statt, weil sich der von ihm bewirkte osmotische Druck, durch die Dichte der Zellmembran geregelt, mit dem Zellinhalte im Gleichgewichte befindet. Letzterer enthält zwar eine dem Drucke entsprechende Menge Achroodextrin III, jedoch nicht mehr so viel, als zur Unterhaltung der Gärung erforderlich ist.

Die weitere Folge dieses Zustandes, welcher ein ganz anderer als der ist, wenn sich von vornherein zu wenig Achroodextrin III in der Lösung befand, um überhaupt diosmieren zu können, ist die Imbibition der Zellwand durch Achroodextrin III, welche eben nur dadurch möglich ist, daß der osmotische Druck noch ausreichend wäre, Osmose zu bewirken, wenn der Gleichgewichtszustand zwischen dem Achroodextringehalte der Nährlösung und des Zellinhaltes durch Gärung aufgehoben würde.

Die Imbibition der Membran durch das schwieriger vergärende Achroodextrin III verhindert bei gleichzeitiger Anwesenheit leicht vergärbarer Zucker, z. B. Maltose, die Assimilation der letzten Zuckerreste und ist die Ursache, daß in Lösungen, welche so viel Achroodextrin enthalten, daß dasselbe diosmiert und von der betreffenden Hefe teilweise vergoren wird, Zucker unvergoren bleibt, der vollständig vergoren sein würde, wenn kein oder nur so wenig Achroodextrin III vorhanden gewesen wäre, daß der osmotische Druck der betreffenden Hefemembran gegenüber Osmose und Imbibition nicht mehr hätte bewirken können.

Wir sehen also, daß das schwierig und unvollständig diosmierende und vergärende Achroodextrin III die vollständige Vergärung der leicht diosmierenden und vergärbaren Zucker zu verhindern vermag, wenn die Zellmembran von einer solchen Dichte ist und der osmotische Druck so weit abgenommen hat, daß er nicht mehr genügt, Osmose zu bewirken. Nur Hefen mit größerem Durchlässigkeitsvermögen, welchen sich das Achroodextrin III gegenüber als leicht diosmieren-

der Körper verhält, werden dasselbe unter gewöhnlichen Bedingungen samt dem leicht diosmierenden Zucker vollständig vergären können.

Allein auch in diesem Falle wird Achroodextrin III unvergoren bleiben, wenn das Duchlässigkeitsvermögen der Zellmembran so groß ist, daß auch unvergärbare Dextrine diosmieren, welche, gerade so wie das Achroodextrin III die vollständige Vergärung des Zuckers, die Vergärung von Achroodextrin III hemmen und verhindern.

Andererseits können sich, wie schon angedeutet wurde, die vergärbaren Kohlehydrate, selbst bei Anwesenheit genügender Mengen davon, wie die indifferenten unvergärbaren der gleichen Heferasse gegenüber verhalten, wenn die Membran, z. B. durch Pilzschleimausscheidungen, wie dies unter gewissen Bedingungen im Gärbottich der Fall ist, für die betreffenden Kohlehydrate dauernd oder vorübergehend undurchlässig geworden ist.

Das Verhalten der leicht und schwer vergärbaren Kohlehydrate bei der Gärung wird noch klarer, wenn man die Mengen der einzelnen Kohlehydrate berechnet, welche in Lösungen unter den nämlichen Bedingungen gleichen osmotischen Druck bewirken.

Aus den Molekulargewichten berechnen sich diese Mengen, den osmotischen Druck für 1 Teil Lävulose gleich 1 gesetzt, wie folgt:

1,000	Lävulose
1,100	Dextrose
1,900	Rohrzucker
2,000	Maltose
3,700	Achroodextrin I
5,444	„ II
10,900	„ III
32,500	Erythrodextrin.

Bei der Vergärung von Maltose und Achroodextrin III nebeneinander, wohl der häufigste Fall bei der Vergärung von Bierwürzen und Maischen, ist also der osmotische Druck beider gleich, wenn sich die vorhandenen Mengen Maltose zu Achroodextrin III wie 2 : 3,7 oder 1 : 1,85 verhalten.

Da das Diffusionsvermögen der Maltose erheblich höher als das von Achroodextrin III ist, wird auch bei gleichem osmotischen Druck beider mehr von der ersteren als von letzterer diffundieren und vergären. Erst nachdem — geradeso wie bei der Vergärung von Dextrose neben Lävulose — eine gewisse Menge Maltose vergoren und der osmotische Druck des Achroodextrins den der Maltose um eine gewisse Größe, der Dichte der betreffenden Hefemembran entsprechend, überschritten hat, diffundiert mehr Achroodextrin III als Maltose. Von diesem Zeitpunkte an verläuft die Gärung langsamer und findet eine Hemmung der Maltosegärung durch Achroodextrin statt, welche noch zunimmt, weil, wenn auch der osmotische Druck infolge Vergärung abnimmt, doch das Verhältnis des osmotischen Druckes von Maltose zu Achroodextrin III eine stetige Verschiebung zu Ungunsten der Maltosegärung erleidet.

Infolgedessen vergärt immer mehr Achroodextrin III und immer

weniger Maltose und von dem Verhältnisse beider zu einander und der Dichte der Hefemembran hängt es ab, ob die Maltose in dem Zeitpunkte, in welchem der osmotische Druck des Achroodextrins III nicht mehr genügt, dessen Diosmose zu bewirken, schon vollständig vergoren war oder nicht. Dieses Stadium tritt aber noch etwas früher ein, nämlich dann, wenn nicht mehr so viel von den Kohlehydraten in die Zellen eintritt, als zur Unterhaltung der Gärung erforderlich ist.

Inwiefern die Druckkonstante der Bierwürze die Vergärung, insbesondere der schwierig diosmierenden Kohlehydrate beeinflußt, dies zu entscheiden muß weiteren Versuchen vorbehalten bleiben. Es ist jedoch anzunehmen, daß die osmotische Druckkonstante innerhalb gewisser, für die verschiedenen vergärbaren Kohlehydrate und Hefen verschiedenen Grenzen einflußlos ist und sich erst ein Einfluß bemerkbar macht, wenn diese Grenzen überschritten werden.

Außer den erwähnten Umständen kommt noch der Einfluß der gebildeten Gärungsprodukte auf die vegetative Thätigkeit der Hefezelle, wie ich das früher dargelegt habe, in Betracht; die Hemmung der Plasmabewegung durch die Stoffwechselprodukte ist bei verschiedenen Hefen sehr verschieden, wie die bekannten Arbeiten derjenigen Forscher beweisen, welche die Einflüsse der Hefegifte und namentlich der Säuren auf die Gärung eingehend studiert haben.

Bekanntlich vergären die Hefen Saaz und Frohberg bei Anwendung meiner Vacuumgärmethode [1]), und wie ich hier ergänzend bemerke, auch bei Verwendung geringerer, d. h. normaler Hefemengen, die leicht und schwer vergärbaren Kohlehydrate vollständig, weil eben hierbei alle die osmotischen Vorgänge begünstigenden Momente, hohe Gärtemperatur, Bewegung der gärenden Flüssigkeit, Wegschaffung eines großen Teiles der ie Plasmabewegung hemmenden flüchtigen Stoffwechselprodukte, sowie Zufuhr von Sauerstoff, bei dessen Anwesenheit die Gärung auch bei Endosmose viel geringerer Kohlehydratmengen als bei der gewöhnlichen Gärführung bei 25° C im Thermostaten von statten geht, zusammenwirken.

Der Ausspruch van Laer's, daß entweder ein Kohlehydrat vergärbar ist oder nicht, ist vollständig richtig, doch müssen, wie ich theoretisch begründet und experimentell nachgewiesen habe, alle günstigen Momente zusammenwirken. Es kann ein Kohlehydrat der Bierwürze, das leicht und vollständig bei 25° C vergoren wird, bei der Gärführung in der Praxis durch dieselbe Hefe nur teilweise vergoren werden, ebenso wie Hefe Saaz durch die Maltose bei 25° C nicht vollständig, wohl aber in meinem Vacuumgärapparat bis auf den letzten Rest aus der Würze vergärt. Es kommt also ganz auf die Umstände an, unter welchen die Gärung von statten geht. Der Schluß, daß wenn unter gewissen Bedingungen ein Kohlehydrat vergoren wird, dasselbe auch **vollständig** vergoren werden muß, ist ein ganz irriger. Uebrigens giebt dies van Laer dadurch selbst zu, indem er anführt, daß Fischer und Thierfelder einige Zucker nicht vollständig zu vergären vermochten, weil die Konzentration der

---

1) Centralbl. f. Bakteriologie und Parasitenkunde. 1895. II. Abtlg. Bd. II. p. 630.

Lösung eine andere und nicht die übliche gewesen sei! Das heißt doch mit anderen Worten, die Bedingungen zur vollständigen Vergärung waren nicht günstig genug gewählt.

Als Beweis für die Richtigkeit der vorstehenden Entwickelungen dient die von mir gemachte Beobachtung, daß mit Diastase sehr unvollständig verzuckerte Reaktionsgemische der Stärke, welche einen erheblich höheren Prozentsatz unvergärbarer Dextrine und infolgedessen relativ wenig Maltose und nicht so viel Achroodextrin III enthalten, daß dasselbe noch zu diosmieren vermag, in welchen auch die osmotische Druckkonstante außergewöhnlich hoch ist, mit den sonst verschiedenen Hefen Saaz und Frohberg soweit bei 25° C vergären, daß aus dem Gärrückstande kein krystallisierbares Osazon erhalten wird. Unter solchen Umständen verhalten sich also die Hefen Saaz und Frohberg ganz gleich.

Auch der früher schon von Doemens[1]) angestellte Versuch, welcher an der Berliner Versuchsstation von Munsche bestätigt wurde, daß sich bei der Vergärung von Bierextrakt mit den Hefen Saaz und Frohberg, welches immer reich an nicht diffundierbaren Bestandteilen ist, kein wesentlicher Unterschied im Vergärungsgrad ergab, ist eine ganz analoge Erscheinung, die sich dadurch erklärt, daß in dem Bierextrakt nicht mehr so viel Achroodextrin III vorhanden war, als notwendig ist, um sowohl die Zellmembran der Hefen Saaz als auch Frohberg zu durchdringen; es verhält sich deshalb dieser Anteil von Achroodextrin III wie die undurchlässigen Dextrine: er kann nach dem oben Gesagten die vollständige Vergärung der Zucker, welche sich in diesen Fällen, bei 25° C mit frischer Hefe versetzt, wie in reinen Zuckerlösungen verhalten, nicht hemmen.

Unter Berücksichtigung der Gesetze des osmotischen Druckes ist es nicht schwer, einzusehen, daß die Differenz im Vergärungsgrade der von den beiden Hefen Saaz und Frohberg vergorenen Würzen von gewöhnlicher Zusammensetzung nahezu konstant sein muß, wie dies thatsächlich beobachtet wird.

Die dichtere Membran der Hefe Saaz bewirkt, daß ihrer Dichte entsprechend, ein ganz bestimmter Anteil Achroodextrin III und damit auch Zuckerrest unvergoren bleibt. Dieser unvergärbare Rest ist bei Hefe Frohberg, ihres höheren Durchlässigkeitsvermögens halber, geringer, aber ebenfalls ein ganz bestimmter Anteil und deshalb ist die Differenz in Würzen, welche so viel Achroodextrin III enthalten, daß dasselbe (infolge seines osmotischen Druckes) zu diosmieren vermag und von beiden Hefen vergoren wird, immer gleich.

Die Versuche von Irmisch, wonach der von Hefe Saaz in einer Würze nach der Gärung verbleibende, unvergorene Extraktrest von Hefe Frohberg noch ebenso weit vergoren wird, als Frohberg die Würze allein vergoren hatte, während Saaz den Extraktrest von Frohberg nicht weiter zu vergären vermag, sowie der Umstand, daß nach Zusatz von Maltose zu den Extraktresten zwar die zugefügte Maltose, aber nichts von den zugehörigen Extraktresten von beiden Hefen ver-

---

1) Allgemeiner Anzeiger für Brauereien. 1894. No. 50.

goren wird, verstehen sich nach den vorstehenden Auseinandersetzungen von selbst.

Eines der günstigen Momente für den Verlauf der Gärung ist bekanntlich die höhere Temperatur. Nach den van't Hoff'schen Gesetzen ist der osmotische Druck einer Nährlösung bei gleichem Volumen der absoluten Temperatur proportional. Wendet man dieses Gesetz auf die vorhergehenden Entwickelungen an, so folgt, daß bei höherer Temperatur in der Zeiteinheit mehr von den Kohlehydraten diosmieren und vergoren werden, als bei niederer Temperatur. Allein nicht nur auf die Intensität der Gärung, sondern auch auf die Menge der vergärbaren Kohlehydrate ist die Temperatur von Einfluß, was schon der Umstand beweist, daß bei der Vergärung von Bierwürzen bei den tiefen Temperaturen in den Lagerkellern der Brauereien nur verhältnismäßig selten der sogenannte Endvergärungsgrad erreicht wird.

Die vorstehend entwickelten Gesetzmäßigkeiten können nicht durch das Verhalten verschiedener Hefen gegen Bierwürze, in welcher das Verhältnis der Kohlehydrate zu einander unbekannt ist, auf ihre Richtigkeit geprüft und erweitert werden, sondern dies ist nur möglich, wenn man die reinen Kohlehydrate für sich allein und in Mischungen verwendet, weil man nur dann den osmotischen Druck der Nährlösung berechnen, seinen Einfluß und die Aenderungen in der Zusammensetzung der Flüssigkeit verfolgen kann. Ich habe dieses Studium aufgenommen und hoffe in nicht allzuferner Zeit weitere Versuche und Resultate mitteilen zu können. Vielleicht gelingt es alsdann, Unterschiede zwischen den einzelnen, in chemischer Beziehung gleichen Hefetypen zu finden, dieselben näher zu charakterisieren und ihr unterschiedliches Verhalten auch da zu erklären, wo dies bislang unmöglich war.

Es erscheint dies nicht unwahrscheinlich, nachdem der chemische Teil der gärungsphysiologischen Forschung zu einem gewissen Abschlusse gekommen ist und vorerst keine weiteren Aufklärungen erwarten läßt, wie die voreiligen und nunmehr als irrig dargethanen Hypothesen beweisen, wonach jeder durch eine Hefe unvergoren gebliebene Zuckerrest als „besondere Modifikation“, welcher ein „besonderes Hefeenzym“ entsprechen sollte, angesehen wurde.

Die Erfahrungen und Erfolge der Physiologie sprechen unzweifelhaft dafür, daß man die gärungsphysiologischen Vorgänge nur dann zu erforschen vermag, wenn die chemischen und physikalischen Gesetzmäßigkeiten, welche das Leben der einzelligen ebenso wie jenes der aus Zellen aufgebauten höheren Organismen beherrschen, gleichzeitig berücksichtigt werden.

Zusammenfassende Uebersichten.

Die Genossenschaften der Baumflussorganismen.

Sammelreferat.

Von

Prof. Dr. F. Ludwig

in

Greiz.

Die Organismen der Baumflüsse, auf die ich zuerst die Aufmerksamkeit gelenkt habe, haben in den letzten Jahren eine größere Anzahl von Forschern beschäftigt, noch ist aber ihre Untersuchung keineswegs erschöpft; im Gegenteil: es haben sich die Probleme gemehrt, die der Lösung noch harren und auch eine Reihe älterer Fragen, z. B. die nach der Beteiligung von Endomyces und Leuconostoc bei den Zerstörungen der Eichenrinde haben noch immer keine Antwort gefunden. Leider gestattet mir selbst eine fortgesetzte Häufung meiner Amtspflichten nicht, diese verschiedenen Probleme in Angriff zu nehmen, ich muß sie Anderen überlassen und möchte dazu den Weg bahnen, indem ich das Wichtigste, was bisher gewonnen wurde, in dem Folgenden noch einmal zusammenfasse. Dieser Zusammenstellung soll dann am Schlusse ein eingehenderes Litteraturverzeichnis folgen.

Wir behandeln zuerst Genossenschaften der pathogenen Flüsse: des weißen Schleimflusses und Alkoholflusses der Laubbäume und des braunen Schleimflusses oder Torulaflusses, sodann die saprophytischen Organismen des Milchflusses, Rotflusses, Moschusflusses etc., zuletzt die Algenflüsse und Pilzalgen in den Baumflüssen.

1) Die Genossenschaft des weißen Schleimflusses und Alkoholflusses der Bäume tritt am häufigsten an Eichen auf, sie wurde weiter beobachtet an Birken, Pappeln, Weiden, Ahornen, Eschen und an Rotbuchen. Es ist dieser Fluß das Resultat einer völligen Rindenvergärung (der Elemente der Rinde, des Bastes und Cambiums), an der sich ganz regelmäßig und allenthalben die 3 Pilze Endomyces Magnusii Ludw., Saccharomyces Ludwigii Hansen und Leuconostoc Lagerheimii beteiligen, in ähnlicher Weise wie auch bei der Gärung des Gingerbeer (durch Saccharomyces pyriformis und Bacterium vermiforme), bei der Herstellung des Kefir (durch Saccharomyces Kefyr und Bacillus caucasicus), der Arrakgärung (durch Chlamydomucor Oryzae, Monilia javanica, Saccharomyces Vordermamis), der Ananasgärung (durch Sporochisma paradoxum und einer Hefe) und in vielen anderen Fällen gleichzeitig mehrere Organismen regelmäßig beteiligt sind. Nur beiläufig und meist in späteren Stadien stellen sich noch verschiedene andere Organismen ein, die die Gärung variieren oder sekundäre Erscheinungen hervorrufen. Die Gärungs-

produkte brechen mit den genannten Pilzen unter der Borke hervor und rinnen in größeren oder kleineren Massen (oft literweise) vom Baume zur Erde. Unsere Kenntnisse von den drei hauptbeteiligten Pilzen und ihren Wirkungen sind gegenwärtig die folgenden:

Endomyces Magnusii Ludw., einer der niedersten Ascomyceten, besitzt bei ungehemmter Entwickelung an den Eichen etc., auf Bierwürze, Mohrrübenscheiben, Pflaumendekokt, Kirschsaft, Milch, Kartoffeln etc. ein sehr kräftiges Mycel aus starren, vielzelligen und reichverzweigten Hyphen, das durch die charakteristische, vorwiegend unilaterale (sympodiale) Verzweigung und die konstante Anordnung der Zellwände leicht von anderen Pilzmycelien zu unterscheiden ist. Die Zellen der Hauptäste sind meist 50—70 μ lang, 8—10 μ dick. Bedeutende Schwankungen in den Dimensionen der Zellen treten besonders da auf, wo das Mycel in der Leuconostocgallerte liegt oder wo die Hefebildung im Gange ist. Hier wie in gewissen Nährmedien (z. B. Himbeersaft) haben die Hyphen oft nur 4—9 μ oder gar nur 2,5 μ Durchmesser, sehr häufig findet sich eine plötzliche Verschmälerung des Sproßendes. Die Zellwände an den Verzweigungsstellen bilden einen stumpfen Winkel mit einander, indem die sehr starken (scheinbaren) Seitenäste den schwach gekrümmten Hauptfaden fast tangential zu verlassen scheinen, wobei die vom Sproßende entfernte, an der Basis eingeschnürte Seite unten konvex erscheint. Fortpflanzungsorgane sind außer den Ascosporen: Oidien und derbwandige Chlamydosporen. Am häufigsten werden an den Enden der Aeste in basipetaler Folge rundlich elliptische bis walzliche Oidien abgegrenzt. In manchen Nährsubstraten findet eine endlose Oidienbildung oder eine völlige Querzergliederung des Mycels statt, häufig findet auch eine endogene Oidienbildung statt, indem die Membran der Hyphen sich nicht an der Oidiumbildung beteiligt, die durch Teilung des Inhaltes entstehenden Oidien eine neue Membran bilden und danach in der Zergliederung fortfahren. Das Oidium des Endomyces Magnusii unterscheidet sich nicht nur in kultureller Hinsicht und durch seine eigenartigen Wirkungen, sondern auch durch seine am Ende verjüngten retorten- oder bajonettähnlichen Keimformen. Neben der rundlichen Oidiumform treten im Leuconostocschleim im Freien wie im Himbeersafte an untergetauchten Mycelien, und in fester Bierwürzgelatine scharfgliedrige, cylindrische Querzergliederungen, auf. Chlamydosporen finden sich seltener als bei den nächstverwandten Parasiten des Hallimaschs, Endomyces decipiens Reeß. Sie treten besonders bei ungünstigen Ernährungsverhältnissen während der Ascenbildung auf. So erhielt ich ausnahmslos Chlamydosporen von 18 bis 12 $\asymp$ 22—24 an Stelle der Ascen bei Zusatz von Rohrzucker zur Fleischpeptongelatine, auf der der Pilz gezogen wurde. Die Asci treten meist erst gegen Ende der Vegetation, aber dann allenthalben auf, besonders innerhalb der Leuconostocgallerte. Sie entstehen als blasige Anschwellungen der Astenden und bilden regelmäßig 4 Sporen, die nach völliger Ausbildung isoliert am Schlauche liegen, von wässerigem durchsichtigen Epiplasma umgeben. Brefeld, dem es auch gelang, in Objektträgerkultur durch Retardierung der Oidien-

bildung (infolge Zusatzes neuer Nährgelatine) Mycelien mit reiner Ascenbildung zu kultivieren, fand zuerst die Oberfläche der Ascosporen mit warzenförmigen Emergenzen bedeckt. Fusionierungen benachbarter Zellen untereinander und mit den Ascen sind sehr häufig und wurden früher irrigerweise als Befruchtungsvorgänge gedeutet.

Die Alkoholgärung der lebenden Eichen, Birken etc. wird stets eingeleitet durch die lebhaft sprossenden Endomycesoidien, sie erreicht dann oft ihre Höhe erst durch Mitwirkung des Saccharomyces und kann später von diesem allein unterhalten werden. Ich habe mittels des reingezüchteten Oidiums in verschiedenen Substraten (Kirschsaft, Pflaumensaft, Bierwürze) lebhafte Gärung mit angenehmem Aethergeruch erhalten. C. Chr. Hansen hat sodann durch dasselbe Oidium (er nennt es „Ludwig's Oidium", da er die Ascusform in seinen Kulturen nicht beobachtete) in Bierwürze bei 25—27° C schon nach einem Tage eine deutliche Gärung hervorgerufen, wobei die Oidiensprossungen eine oberflächliche Kahmhaut bildeten. Nach 11 Tagen enthielt eine Würzekultur bei gewöhnlicher Zimmertemperatur 0,75 Volumprozent Alkohol und nach 22 Monaten 1,4 Volumproz. In einer Lösung von 10 Proz. Dextrose in Hefewasser bei 25° C bildete der Endomyces 3,4 Proz. Alkohol. In allen Fällen hatte gleichzeitig eine kräftige Aetherbildung stattgefunden, die sich auch durch den Geruch bemerkbar machte. Auch Beyerinck, dem ich Greizer Material sandte und der dann selbst in Holland den Endomyces mit Saccharomyces und Leuconostoc fand, hat bestätigt, daß der Endomyces Magnusii ein sehr kräftiger Gärungserreger ist, der später Kahmhaut bildet und vorzüglich auf Bier gedeiht. Prof. Dr. Bernh. Fischer und Dr. Brebeck in Kiel haben gleichfalls mit dem von mir erhaltenen Material Alkoholgärung hervorgerufen, die von einem äußerst angenehmen ätherischen Geruche begleitet war, der Alkohol roch betäubend und erinnerte im Geschmacke an Bittermandelöl. Brefeld hatte dagegen mit dem in Ascusbildung begriffenen Materiale, das ich ihm sandte und welches er dann weiter kultivierte, keine Alkoholbildung erzielt. Fischer und Brebeck fanden, daß die oben erwähnte Querteilung der Hyphen in Bierwürzgelatine etc. mit solcher Kraft erfolgt, daß Winkelstellung der Zellen eintritt, wobei sich die Enden momentan abrunden (so daß die genannten Forscher diese Mycelform des Endomyces dem Schizosaccharomyces entsprechend als Schizoblastoderma bezeichnen). Neben dem Endomyces Magnusii tritt in dem Gärungsschleime der Eichen öfter noch ein Kahmpilz auf, in welchem Fischer und Brebeck wie in anderen Kahmpilzen eine Bildung hutförmiger Sporen, ähnlich denen des Saccharomyces anomalus, beobachteten. Ich hielt diese Sporen früher für die reifen aus den Ascen entleerten Sporen des E. Magnusii (vergl. die Abb. in den Berichten der Deutschen Bot. Gesellsch. 1886. Tafel 8 *h*).

Saccharomyces Ludwigii Hansen, die Eichenhefe, welche typisch mit dem Endomyces Magnusii auftritt, bildet citronenförmige, wurst- oder flaschenförmige, zuweilen ellipsoidische Sproßzellen, daneben aber auch typisch gegliederte Mycelien mit breiten

und derben Querwänden. Sie erzeugt sowohl im Freien an den gärenden Bäumen, wie auf Gelatine und in Gypsblockkulturen und selbst in zuckerhaltigen Lösungen, wo nur der von Hansen im Schleimflusse einer Ulmenwurzel gefundene Saccharomyces membranaefaciens ein ähnliches Verhalten zeigt, mit Leichtigkeit Sporen. Nach Hansen tritt diese endogene Sporenbildung am reichlichsten bei etwa 25° C ein und zwar werden bald 1—4, bald 6—8 Sporen in der Zelle gebildet. Die Keimung dieser Sporen ist eine eigenartige, indem nicht sofort wieder Hefezellen, sondern erst ein Mycel (das „Promycel" Hansen's) gebildet werden. Junge Sporen bilden bei der Keimung erst Fusionen, ältere keimen meist ohne diese Fusionierungen und bilden Mycelien mit deutlichen Querwänden. Die Neigung zur Sporenbildung kann bei den aus einer Zelle hervorgegangenen Kolonieen verschieden sein. Hansen erhielt durch fortgesetzte Auswahl von Kolonieen geringster Sporenbildung in Bierwürze bei 25° C schließlich Vegetationen ohne jegliche Sporenbildung. Es gelang ihm, 3 Rassen zu züchten: eine solche, die die Fähigkeit reicher Sporenbildung behielt, eine solche die diese Fähigkeit fast verloren, und eine solche, die das Dermogen der Sporenbildung gänzlich eingebüßt hatte. Daß solche Rassen auch im Freien vorkommen, beweist die Thatsache, daß es Brefeld nicht gelang, aus der typischen Eichenhefe Endosporen zu erhalten, während dies mir, ebenso wie Magnus, von Lagerheim, Hansen und Anderen leicht gelang.

Die Eichenhefe, S. Ludwigii, ist einer der energischsten Alkoholproduzenten. In 10-proz. Traubenzuckerlösung mit Hefewasser bildet er bei 25° C in 14 Tagen ca. 6, in 28 Tagen 6,2 Volumprozent, mit mehr Traubenzucker nach 4 Wochen sogar **10** Volumprozent Alkohol. In Maltoselösung, sowie in Laktose und Dextrinlösung mit Hefewasser wird keine Gärung hervorgerufen. Rohrzucker wird invertiert. In Stärkewasser erfolgt keine Zuckerbildung. In Bierwürze bildet sich langsam eine Kahmhaut mit ausgeprägten Mycelbildungen, während die Sproßzellen als Bodensatz eine feste teigichte oder lockere käseartige Masse bildet. Dem S. Ludwigii näherstehende Hefeformen sind die später von Cavara und P. Lindner beschriebenen Sacch. Comesii Cavara und Schizosaccharomyces Pombe Lindner, der Gärungserreger des ostafrikanischen Negerbieres oder Hirsebieres. Ueber die Beziehungen zu Sacch. membranaefaciens, der weder Maltose noch Dextrose und Saccharose vergärt und zu S. anomalus vergl. das Litteraturverzeichnis (7, 8, 19, 20, 21, 20).

Leuconostoc Lagerheimii Ludw., der dritte der Urheber der Eichenkrankheit etc., ist ein naher Verwandter des berüchtigten Froschlaichpilzes Leuconostoc mesenterioides der Zuckerfabriken, welcher in kürzester Zeit den Inhalt ganzer Bottiche in eine gallertartige weißliche Masse verwandelt. Anfänglich in kugeligen, fast hefeartig sprossenden, später größeren, aus kugeligen oder länglichen Kolonieen zusammengesetzten Gallerthüllen bildet der Pilz, der anfänglich unter der Rinde der Bäume ausgebreitet ist, später aber in mächtigen Massen hervorbricht, mehr oder weniger lange, mehr-

fach hin- und hergebogene, in ihrem Verlaufe den Hüllen entsprechende Schnüre oder Kokken (ca. 0,6—0,8 μ) oder Diplokokken. Die Gallerthüllen zerfließen leicht, besonders beim Transporte des Pilzes und auch im Freien tritt die kapsellose, aus Kurzstäbchen gebildete Form auf. Zopf hat bereits bei dem Leuconostoc mesenterioides sowohl dem javanischen wie dem europäischen einen Dimorphismus nachgewiesen. Dieser Pilz vergärt Traubenzucker, Rohrzucker, Milchzucker, Malzzucker und Dextrin unter Bildung von Kohlensäuregas und Milchsäure. Dextranbildung findet nur bei Gegenwart von Trauben- und Rohrzucker statt. In kohlehydratfreien Lösungen entwickelt er sich zwar üppig, aber ohne Gallert-(Dextran-)hüllen zu bilden. (Einen weiteren „Froschlaich" der Zuckerfabriken bildet das mit Gallertstiel und eigentümlicher Zellteilung versehene Bacterium pediculatum Alf. Koch et Heraeus, das in mancher Beziehung dem Bacterium vermiforme des Marshall Ward aus dem Ingberbier gleicht). Auch das Eichenleuconostoc bildet nach Beyerinck nur in Gegenwart von Zucker und wenigem oder keinem Alkohol Gallerthüllen, bei Abwesenheit von Zucker und Gegenwart von viel Alkohol und Säuren dagegen keine Zoogloeen, sondern Kurzstäbchen, welche viel Essigsäure produzieren und mit dem Baterium xylinum Brown, einer der zahlreichen Varietäten von Bacterium aceti, nahezu übereinzustimmen scheinen. Nach einer Mitteilung B. Fischer's besitzt diese hüllenlose Form, die aus Kurzstäbchen von der Form des Bacterium coli commune besteht (aber meist zu zwei und in beträchtlicherer Größe), nur anfangs die Anordnung in langen Zügen, später tragen die Kurzstäbchen einen langen Geißelfaden und zeigen lebhafte Eigenbewegung.

Dem Dimorphismus geht hiernach zweifellos eine Erzeugung verschiedener Gärungsprodukte parallel. Es beweist dies schon der verschiedene Besuch durch Tiere. So lange Leuconostoc noch Froschlaichkonsistenz hat, wird er von blumenbesuchenden Insekten, besonders auch von Honigbienen, gierig aufgesucht, später, wenn nach der Alkoholgärung die Essigbildung eintritt, bemerkt man in dem nun zerflossenen Schleime keine Biene mehr, wohl aber findet sich dann sehr zahlreich und regelmäßig ein Verwandter des Essigälchen, das von diesem wesentlich verschiedene Eichenälchen (Rhabditis dryophila) in seiner Geschlechtsform ein (die Zwittergeneration lebt vermutlich als Parasit in an den Eichen zu Gaste gehenden Insekten). Die Produkte der ersten Generation sind bisher noch nicht festgestellt worden, vielleicht findet auch durch den Leuconostoc anfänglich Alkoholbildung statt. Dr. Fritz Glaser hat kürzlich eine froschlaichartige oder Gallertausscheidung in Rübenzucker beschrieben, die durch einen leuconostocähnlichen Pilz verursacht wird. Derselbe bildet Alkohol in beträchtlicher Menge und der Rübensaft nimmt schließlich einen kleisterartig saueren Geruch an, doch wird keine Milchsäure gebildet (vielleicht Essigsäure?). Möglicherweise ist dieser Pilz, bei dem Glaser den Namen Bacterium gelatinosum betae vorschlägt, mit Leuconostoc Lagerheimii identisch.

Der Ausbruch des weißen Schleimflusses und der Alkoholgärung der Eichen etc. findet zum Unterschiede von anderen Pilzflüssen mit phänologischer Pünktlichkeit statt (etwa mit der ersten Blüte von Sambucus nigra, nach der von Pirus Aucuparia und Secale Cereale hib.) Ich beobachtete ihn bei Greiz 1884 zuerst im Juni, 1886 17. Juni, 1887 13. Juni, 1888 12. Juni, 1889 30. Mai (allgemein 12. Juni), 1890 8. Juni, 1891 18. Juni, 1892 22. Juni, 1893 22. Juni, 1894 1. Juni, 1895 29. Mai, 1896 5. Juni. Die krebsartig um sich greifende Krankheit ruft eine Zerstörung (Zerfaserung) der Rinde und eine oft auf 1—3,5 m Länge und bis 50 cm Breite umsichgreifende Entblösung der Stämme bis aufs Holz hervor, durch die der Zuwachs der Bäume wesentlich vermindert wird. Auf einer Wegstrecke von ca. $1^1/_2$ km bei Greiz traf ich 1884 ca. 20 infizierte Eichen, 1894 deren 103 mit zusammen ca. 300 alten und neuen Gärungsherden, die an der charakteristischen Zerfaserung nahe der Wundränder leicht erkennbar sind. An manchen Bäumen habe ich die Gärungsausbrüche fast alljährlich in dieser Zeit beobachtet und die Ausbreitung der Krankheit genau verfolgt. Ihren ersten Anfang nimmt die Rindenvergärung wohl meist von Saftflüssen aus Rindenrissen, Wunden, den Löchern des Weidenbohrers etc., später breiten sich die Pilze unter der Rinde alljährlich von neuem (von den überwinternden Dauersporen an) aus. Die Verbreitung von Baum zu Baum geschieht in erster Linie durch die zahlreichen Tiere, die an dem berauschenden Safte zu Gaste gehen und unter denen bereits eine Reihe von Sonderanpassungen stattgefunden haben dürften. So traf ich zum erstenmale im Juli des Jahres 1894 die Honigbiene an den gärenden Eichen, obwohl ich den Insektenbesuch seit 1884 registrierte. Es brach der Schleimfluß gerade zur Zeit großer Hitze aus, während die Wiesen gemäht waren und jegliche Blumennahrung für die Bienen fehlte. Die Bienen kamen aber von da an in Schwärmen zu der neuen Kost, so lange die Eichengärung währte und auch 1895 traf ich sie wieder. Zu den regelmäßigsten Gästen gehören Hirschkäfer, Hornissen, Wespen, von Schmetterlingen Tagpfauenauge, Admiral, Trauermantel, Fuchs, Distelfalter. Fritz Müller beobachtete in Brasilien wiederholt an den Stämmen von Cassia multijuga alkoholduftenden Pilzschaum und fing daran Schmetterlinge und andere Insekten, zum Teil im Zustande der Berauschung. Von Fliegen traf ich regelmäßig an der Eichengärung Musca Caesar, Helomyza tigrina, (Beyerinck traf zahlreiche Exemplare von Drosophila fenebris), von Käfern noch Cetoniaarten, die auch von Dalla Torre in Tirol in ganzen Ketten an den gärenden Eichen fand, ferner Silpha thoracica (deren Larve nebst vielen anderen Larven in dem Pilzschleime lebt — wahrscheinlich auch eine Abweichung von der früheren Lebensweise), Omalium rivulare, Soronia grisea, S. punctatissima, Ips quadriguttata, Rhizophagus bipustulatus, Byrrhus fascicularis, Epuraea strigata, E. aestiva, E. decemguttata, Ameisen, Milben (Hypopuslarven), Würmer (Anguilluliden), Schnecken ergänzen diese Fauna in den früheren und späteren Stadien der Rindenzersetzung. Sonderanpassungen dürften besonders

bei den Milben und Anguilluliden einerseits und den Insekten der Flußfauna andererseits stattgefunden haben, sei es, daß sich die ersteren im Puppenzustande (wie dies Moniez bei Rhabditisarten beobachtet hat) den Insekten, Milben etc. anheften und durch sie verschleppen lassen oder daß sie als Schmarotzer in zweiter Generation gewisse Insekten aufsuchen.

Einen Schleimfluß mit Alkohol- und Hefegeruch (der den eben erwähnten Flüssen eigen ist) fand G. von Lagerheim im Krater des Pululahua an einer Puyaspecies (Bromeliacee). Der Hauptbestandteil des Schleimes war hier das merkwürdige zu den Hemiasceen, einer Abteilung der Mesomyceten, gehörige Pilz Dipodascus albidus, dessen Oidienform an die des Endomyces erinnert und der außer ihr noch Sporangien bildet. Außerdem fanden sich — wie in den späteren Stadien des Eichenflusses — noch zahlreiche andere Organismen, nämlich 3 verschiedene oidienbildende Pilze, mehrere Hefepilze, die in der Gelatinekultur aufgingen, ferner viele Anguilluliden, zahlreiche amöbenartige Organismen, verschiedene Bakterien etc. Amöben in oder außer der Cyste traf ich sehr regelmäßig in Ulmenflüssen, in braunen französischen Baumflüssen etc., sie stehen offenbar der Amoeba zymophila Beyerinck nahe, welche Beyerinck mit Saccharomyces oder Essigbakterien oder beiden zusammen auf Nährgelatine gezüchtet hat (Centralblatt f. Bakt. und Parasitenk. Bd. XIX. 1896. 1. Abt. p. 257—267. Taf. VII).

2) Die Torulagenossenschaft des braunen Schleimflusses. Mit diesem Namen habe ich eine pathologische Erscheinung bezeichnet, die in Obstplantagen, an Alleebäumen etc. häufig auftritt und in manchen Gegenden Deutschlands und Frankreichs großen Schaden anrichtet. Diese Krankheit, die besonders häufig an Aepfelbäumen, Roßkastanien, Birken, Pappeln, gelegentlich aber auch an Ulmen (an diesen traf ich besonders häufig auch einen weißlichen Fluß mit Amöben), Hainbuchen, Tulpenbäumen, Eichen etc. beobachtet wurde, ist charakteristisch durch das Ausfließen eines gelbbraunen zähen, aber nicht gallertartigen Schleimes, der im Holz seinen Ursprung hat, die Rinde durchbricht und oft meterhoch und bis zu 20 cm breit am Stamme herabfließt, vom Frühjahr bis zum Winter andauernd, also nicht wie der weiße Eichenfluß mit phänologischer Phase. Die Rinde wird schließlich völlig zerstört. Das morsche, in lebhafter Zersetzung befindliche Holz zeigt Buttersäuregeruch und enthält freie Buttersäure. Der frische Schleim besteht anfangs nur aus Mikrokokken, die mit einem Hyphenpilz, Torula monilioides Corda, vergesellschaftet sind. Der letztere, der bei der Zersetzung zweifellos eine wichtige Rolle spielt, bildet im Innern des Schleimes hyaline Zellschnüre (forma hydrobiotica Saccardo in lit.), an eingetrockneten Stellen schwärzlich-braune Zellschnüre aus kugeligen oder elliptischen Zellen und bedingt die braune Färbung des Flusses. Die Hauptrolle fällt jedoch den Bakterien zu, die ich Micrococcus dendroporthos Ludw. benannt habe. In späteren Stadien des Flusses, den man oft jahrelang an demselben Baume beobachten kann, treten noch eine ganze Reihe anderer Baumflußorganismen auf,

besonders Fusarium, braune, große, an die Teleutosporen einer Puccinia erinnernde Pilzsporen, vermutlich zu einem Ascomyceten gehörig, Algen (Bacillariaceen, Protococcaceen). Fast regelmäßig findet man eine Milbe, Glycyphagus hericius Fum. et Rob. und deren Reste, Anguilluliden (Rhabditis lyrata Schneider), Rädertierchen und Urtiere, so daß diese gewissermaßen zur Charakteristik dieser Genossenschaft von Baumflußorganismen gehören. Ich fand sie sämtlich in braunen Flüssen aus den verschiedenen Gegenden Deutschlands und Frankreichs und aus einem braunen Fluß aus Belgien. Vielleicht in die Entwickelung des Micrococcus dendroporthos gehörig, ist auch ein von Beyerinck aus dem braunen Flusse isoliertes Bakterium, das nach ihm dem Bacterium coli commune nahe steht und sehr kräftige Gärung (Gärungsgase H und CO_2) erzeugt, obwohl ich an den Bäumen nie eine eigentliche Gärschaumbildung wie bei dem Alkoholflusse bemerkt habe. An einer Roßkastanie mit weißlich-braunem Schleimflusse, wo sich dies letztere Bakterium fand neben Torula monilioides, Fusarium und einem Oidium, bemerkte ich Alkohol- und Aethergeruch. Die Pilzmasse verursachte auch im Wasser und in Nährgelatine einen ananasähnlichen Geruch. Das Oidium vergärt Kirschsaft etc., Beyerinck konnte jedoch mit dem übersandten Oidium keine Gärung mehr hervorrufen (möglicherweise war die Fähigkeit, Gärung zu erregen, verloren gegangen. Vergl. das negative Resultat, das Brefeld mit Endomyces Magnusii erhielt.) Beyerinck fand jedoch, daß das Oidium vorzüglich auf Bier gedeiht, während hier das in Rede stehende Bakterium zu Grunde geht. Er konnte so die Oidiumkulturen leicht bakterienfrei machen.

Schwarze Gummose. In den Bäumen, die längere Zeit an einem der genannten Pilzflüsse gelitten, sowohl den von der Endomycesgenossenschaft befallenen Eichen, Buchen etc., wie an den von der Torulagenossenschaft befallenen Roßkastanien, Birken, Pappeln, Hainbuchen, Kastanien tritt sehr häufig als sekundäre Erscheinung eine gummöse Zersetzung des Holzes auf. Aus dem Innern des Holzes fließt eine gelbbraune klebrige Flüssigkeit, deren Tropfen, an der Luft erhärtend, schließlich nuß- bis faustgroße Klumpen eines schwarzen glänzenden Gummis bilden. Ich fand diese Erscheinung an zahlreichen der von mir jahraus jahrein beobachteten Bäumen in späteren Stadien, z. B. 1894 an einer Eiche, die alljährlich 10 Jahre lang den weißen Schleimfluß mit Alkoholgärung gezeigt hatte. Trelease sandte mir das schwarze Gummi von Populus tremelloides aus Colorado, Crié von Castanea vesca, Quercus, Pirus Malus, Fagus (an Castanea auch nach einem Ascoideaflusse) aus Frankreich etc. Die schwarzglänzende Masse dieses Gummis enthielt stets nur Ueberreste der früheren Schleimflußpilze, scheint also einen spezifischen Urheber nicht zu haben. (Anders verhält es sich mit einer profusen rubin-roten Gummose der Hainbuchen, die vor einigen Jahren an der Rudelsburg bei Kösen in Thüringen auftrat, wo die rubin-roten Gummiklumpen fast ausschließlich aus kleinen Sichelkonidien eines Ascomycetenpycnidiums bestanden.)

3) Milchfluß und Rotfluß nannte ich zwei Pilzflüsse, die noch

bei Schnee und Eis und im ersten Frühjahre im Blutungssafte der Birken und Hainbuchen auftreten. Der Milchfluß findet sich an den Stümpfen frisch gefällter Birken, Hainbuchen etc., an frischen Wundflächen geästeter Hainbuchen, oft in großen halbflüssigen Schleimmassen am Stamme herablaufend. Den Hauptbestandteil des Pilzschleimes bildet um Greiz Endomyces vernalis Ludw., der sich durch dünnfädiges Mycel, kleinere Oidien und durch sein kulturelles Verhalten von dem E. decipiens, dem Parasiten der Hallimaschs, unterscheidet, während die Chlamydosporen beider fast übereinstimmen. Asci fand ich bisher nur spärlich und noch nicht reif, doch dürfte die Sporenbildung der des E. decipiens gleichen. Außerdem enthielt der weiße Pilzschleim noch mancherlei Hyphomyceten (Mucor etc.), Hefekonidien und Bakterien. Eine Hefe, die den Birkensaft in Alkoholgärung versetzt (wohl auch das Hauptferment des natürlichen Birkenweines), dürfte mit Saccharomyces Betulae Pk. et Pat. übereinstimmen, den Peck in einem Pilzflusse eines frischen Stumpfes von Betula lutea bei New Baltimore in Amerika fand. An manchen Stellen zeigt der weiße Schleim des Frühlingsflusses der Bäume rosenrote Stellen und manche Hainbuchen zeigten ausschließlich diesen Rotfluß. Die Pilzform, die in diesem Flusse die Rotfärbung bedingte, gleicht in vieler Hinsicht dem pathogenen Rhodomyces Kochii von Wettst., der beim Menschen Verdauungsstörungen (Pyrosis) erzeugt (vergl. Sitzungsbericht d. Kaiserl. Akad. d. Wissensch. Wien. 1885. Bd. XCI. I. Abt. Februarheft. p. 33—58 mit 1 Tafel). Ich nannte sie Rhodomyces dendrorhous.

Brefeld und Lindau fanden im Saftflusse von Buchenstümpfen die merkwürdige Ascoidea rubescens Bref. et Lindau, eine Hemiascee, die in abwechselnder Folge Konidien und Sporangien an den Enden gegliederter Mycelien bildet. Die erste Konidie wird von der fortwachsenden Hyphe zur Seite geschoben, worauf immer neue endständige Konidien gebildet werden, so daß das Fadenende zuletzt von dichtgedrängten elliptischen Konidien besetzt erscheint. Bei schlechter Ernährung wird das abgegliederte Ende zu einem vielsporigen Sporangium, das nicht zur Seite geschoben, sondern durch den fortwachsenden Faden entleert und durchwachsen wird. Zuletzt finden sich manschettenartig am Grunde der jungen Sporangien die ineinander geschachtelten Hüllen. Die in Zwillingsform gebildeten Sporen bilden bei der Keimung Mycelien oder hefeähnliche Sproßkonidien.

Ich selbst fand 1892 an Buchenstümpfen einen rot- bis chokoladefarbenen Pilzschleim, der den Saftfluß noch 1 Jahr lang nach dem Fällen der Bäume unterhielt. Die Hauptmasse war ein oidienbildendes Mycel, das sich als zu Ascobolus Costantini Roll., einem 1887 von Costantin bei Paris entdeckten Pilze gehörig erwies. Die Ursache der roten Färbung waren hauptsächlich Bacillenzooglöen. Die Oidiumform des Ascobolus Costantini (Beschreibung und Abbild. vgl. Bull. Soc. myc. de France. 1888. Fasc. 2. p. 56 ff. pl. XV. Fig. 1) besitzt ein Mycel von unilateraler Verzweigung ähnlich der des Endomycesoidiums. Die sehr

dünnen Aeste sind jedoch nicht starr wie bei letzterer Art, sondern schlank wellig-bogig, sehr verlängert. Die Aeste, wie die Oidien sind nur 4—6 μ dick (bei Endomyces Magnusii 8—10 μ). Sowohl im Ascoideaschleim, den ich von Brefeld erhielt, wie dem Ascobolusschleim fanden sich in Menge Insektenlarven und Anguilluliden. Die Rinde, die von den roten Bakterienzooglöen befallen war, roch nach der „Sauerbrühe" der Rotgerber, so daß diese Bakterie wahrscheinlich bei den Gärungsvorgängen der Lohgerberei ein natürliches Ferment darstellt.

4) Moschusfluß. An Linden bei Greiz traf ich zuerst 1891 als Hauptbestandteil eines schmutzig weißlichen bis gelblichen teilweise gallertig-knorpeligen Pilzflusses, der das ganze Jahr über währte und auch die folgenden Jahre wiederkehrte, einen Leptothrix ähnlichen Schizomyceten und ein Fusarium mit vierteiligen Sichelsporen das ich nachträglich als Nebenbestandteil in vielen anderen Baumflüssen (bei Schmalkalden in einem lebhaft roten Buchenfluß mit Leptothrix oder Beggiatoa zusammen) traf. Wie der Endomycesfluß durch Alkoholgeruch (Biergeruch), der Torulafluß durch Buttersäuregeruch charakterisiert ist, so hat der Moschusfluß an den Bäumen einen betäubenden Geruch, den ich mit dem des Jodoforms (und Safrans) vergleichen möchte. Erst in der Gelatinekultur etc. trat reiner Moschusgeruch auf. Die Reinkultur ergab die Zugehörigkeit der Sichelsporen zu Fusisporium moschatum Kitasato = Fusarium aquaeductuum von Lagerheim (Selenosporium aquaeductuum Rbh. et Rdlky.), dem Moschuspilz. Bekanntlich tritt dieser Pilz auch in Wasserleitungen und Mühlgräben in solcher Massenentwickelung auf, daß er erstere verstopft und den Gang der Mühlen und Turbinen hemmt, den Arbeitern durch seinen betäubenden Geruch unerträglich wird.

Die Rotfärbung des Pilzes wird am intensivsten in Kartoffelkulturen, wenn man die oberflächliche Schicht wiederholt abträgt, sie wird dann schließlich intensiv zinnoberrot. G. von Lagerheim fand zuerst die Perithecien des Moschuspilzes in Upsula an einer Wand, wo der Pilz in langen weißgrauen Fetzen aus der Oeffnung eines Wasserleitungsrohres heraushing und sich von da in bleichroten Kissen an den feuchten Teilen der Wand und in schwarzbraunen Ueberzügen an den trockenen Stellen ausgebreitet hatte. Heller hat nachgewiesen, daß der Pilz bei kaltblütigen Tieren auch pathogen auftreten kann. Nach v. Lagerheim hat Hugo Glück, der den Pilz aus einem Pilzfluß der Eiche bei Halle a. S. isolierte, die Ascusfruktifikation genauer beschrieben und denselben als Nectria moschata Glück benannt; aus Prioritätsgründen ist dafür aber Nectria aquaeductuum (Rabh. et Radlkofer) zu setzen. Die Perithecien sind rötlich-braun, mit bloßem Auge noch gut sichtbar, aus einem kugeligen mit Papillen dicht besetzten Bauchteil und einem abgesetzten Halsteil bestehend. Die Perithecien messen 202—405 μ und 135—256,5 μ. Die Ascen zwischen langen Paraphysen sind lang (78—101 μ) und schmal (oben 5,6—8,4 μ breit) farblos,

mit 8 Sporen versehen. Letztere sind zweizellig, 9—10 ≍ 3,8—4,2, zweizellig, schwach rötlich-braun. Sie werden aus dem Ascus ejakuliert.

Erwähnt sei hier noch im Anschluß an die Leptothrixformen der Pilzflüsse das von Sorokin in Kasan in der Stammhöhle einer Schwarzpappel entdeckte Spirillum endoparagogicum Sorok. Die lebhaft beweglichen Fäden dieses Spaltpilzes vermehren sich außer durch Zweiteilung durch Sporen, die noch in der Mutterzelle senkrecht zu dieser auskeimen; oft noch (ohne Zellwand) mit der Mutterzelle in Verbindung bleiben, so daß es scheint, als wären die Spirillen verzweigt.

5) Schwarze Baumflüsse sind meist spätere Stadien der oben erörterten pathologischen Erscheinungen und verdanken ihre dunkle Färbung entweder dunkelbraunen Hyphenpilzen oder der üppigen Entwickelung gewisser Algen, so z. B. an Rotbuchen in Thüringen Scytonema Hofmanni Egg. (neben Bakterien), in anderen Gegenden neben Bakterien) Hormidium parietinum Kütz. im Uebergang zu Schizogonium, Chthonoblastus Vaucheri Kütz. forma muscicola Rabenh., Gloeotila protogenita Kütz., Pleurococcus vulgaris Menegh., Cystococcus humicola Naeg., Stichococcus bacillaris Naeg., Navicula borealis Ehrb., N. Seminulum Grün., Characium sp. etc.

6) Pilzalgen in den Baumflußgenossenschaften. In den späteren Stadien der braunen Schleimflüsse der Apfelbäume, Roßkastanie etc. finden sich noch eine Reihe von Algen und algenähnlichen Organismen von besonderer Anpassung. So fand ich in mehreren französischen Torulaflüssen, in solchen, die ich von Aesculus hippocastanum durch Prof. Dr. Crié aus Rennes und in Ulmenflüssen aus Sens (Yonne), die ich von Dr. René Ferry erhielt einen neuen pilzähnlichen Organismus, Eomyces Criéanus Ludw. dessen kugelige farblose dünnwandige Zellen sich fortgesetzt durch Vierteilung in tetraëdrischer Anordnung vermehren.

Die Teilzellen runden sich ab und teilen sich, wenn sie etwa 5—7 μ Durchmesser erreicht haben, immer von neuem. Die Kolonieen, von meist 4, 16, 64 Zellen, behalten dabei lange die charakteristische Anordnung im ganzen wie in ihren Teilen bei. Eine Mycelbildung und eine andere Vermehrungsweise wurde nicht beobachtet. Abgesehen von dem Chlorophyllmangel gleichen diese Pilze völlig niederen Algen, aus denen sie offenbar durch Einbuße der Fähigkeit der Kohlensäureassimilation in den an Kohlenhydraten reichen Baumflüssen in der Neuzeit erst entstanden sind. Während aber hier die Stammalge nicht aufzufinden war, fand ich an graubraunen sandähnlichen Flüssen von Aesculus bei Greiz und in französischen Baumflüssen eine Reihe von chlorophyll- und phycocyanfreien Organismen in lebhafter Entwickelung, die morphologisch mit den an der Rinde derselben Bäume vegetierenden grünen Algen völlig übereinstimmten und deren Abstammung von letzteren dadurch noch weiter bewiesen wurde, daß einzelne Zellen der sonst farblosen

Kolonieen noch Chloroplasten bildeten, so z. B. mit Chlorococcum humicola Rbh. (Cystococcus humicola Naeg.), Stichococcus bacillaris Naeg. etc. übereinstimmende Formen. Diese Funde erscheinen in hellerem Licht durch die Entdeckungen von Wilh. Krüger (Beiträge zur Kenntnis der Schleimflußorganismen). Krüger hat zunächst aus Linden- und Ulmenflüssen zwei Organismen isoliert, die er als Prototheca moriformis Krüger und P. Zopfii Krüger beschrieben hat. Auf den verschiedensten Nährböden pflanzen sich diese elliptischen oder kugeligen Organismen nur durch succedane Zweiteilung fort. Die im Inneren der Zellhaut entstehenden Sporen treten einzeln oder zusammen (unter Beibehaltung ihrer Anordnung) aus, um sich von neuem zu teilen. Die beiden Arten unterscheiden sich in kultureller Hinsicht nicht unwesentlich voneinander. Krüger fand sodann in Pappeln- und Ulmenflüssen zwei weitere, gleichfalls auf Gelatine züchtbare Arten von grünen Algen, Chlorella (?) protothecoides Krüger und Chlorothecium saccharophilum Krüg., die ganz dieselbe Fortpflanzung wie die Protothecaarten haben (voneinander durch die Form der Chloroplasten unterschieden sind). Chlorella (?) protothecoides unterscheidet sich von Prototheca Zopfii nur durch den Chlorophyllgehalt, in morphologischer und physiologischer Hinsicht sind sie gleich, nur kann die Chlorella ihren Kohlenstoffbedarf aus der Kohlensäure der Atmosphäre decken, Prototheca nicht. Dagegen vermag erstere wie letztere den Kohlenstoff aus Traubenzucker, Glycerin etc. zu nehmen und sie thut das, wenn ihr diese Stoffe dargeboten werden. Da, wo in den Nährlösungen die genannten Algen nicht auf die Kohlensäureassimilation angewiesen sind, tritt in den Krüger'schen Kulturen die Chloroyhyllbildung schließlich ganz zurück, so daß dann ein Unterschied zwischen Chlorella protothecoides und Prototheca Zopfii überhaupt nicht mehr besteht. Was Krüger in der Kultur erreichte, findet draußen in der freien Natur offenbar in den Pilzflüssen statt: eine Bildung von „Parallelformen der Protococcaceen (und anderer Algen) im Pilzreich" einer biologischen Gruppe der „Jungpilze" oder Caenomyceten, wie ich sie nannte.

Eine ähnliche Umwandlung grüner Algen in saprophytische Pilze, wie sie an den an kohlenhydratenreichen (häufig auch mangelhaft belichteten) Baumflüssen stattfindet, hat Hansgirg schon vor längerer Zeit bezüglich der Keller- und Höhlenflora nachgewiesen. So gehört nach ihm eine als var. cavernarum unterschiedene farblose Kellerform zu Gloeothece rupestris (Lyngb.) Bor., eine als var. gloeophila unterschiedene farblose Form zu Lyngbya calcicola (Ktzg.) Rbh. „Neben der typischen phycochromhaltigen Form von Plectonema gracillimum (Zopf) Hanig. kommt fast in allen älteren, wenig gereinigten Prager Warmhäusern an feuchten Glasdächern eine mehr oder weniger ganz farblose Form derselben Fadenalge in Gesellschaft der ihr entsprechenden, ebenfalls nicht selten ganz farblosen Leptothrixform und der einzelligen Kokken und Stäbchenprogloeaform vor, die auf

der Innenseite feuchter unreiner Fensterscheiben in alten Warmhäusern dünne, schleimige, rahmartige Ueberzüge von grauer oder weißlicher Farbe bildet." Ein Analogon zu dem einer Gloeothece oder Aphanothece zugehörigen Bacillus muralis Tomaschek (nach Hansgirg zu Aphanothece caldariorum Richter; einer Form von Plectonema (Glaucothrix) gracillimum gehörig) bildet der von mir in französischen und deutschen Apfelbaumflüssen (der Torulagesellschaft) gefundene Leucocystis (Mycocapsa) Criei Ludw., welcher von einer der baumbewohnenden Gloeocapsaarten in ähnlicher Weise abstammen dürfte, wie die Prototheca Zopfii von Chlorella (?) protothecoides. Die folgende Gegenüberstellung zeigt die Verwandtschaft der baumfluß- und höhlenbewohnenden Pilzalgen noch deutlicher.

Keller- und Höhlenorganismen:	Bewohner der Schleimflüsse der Bäume:	Verwandte Algen:
Prototheca sp. in einem Felsenkeller bei Greiz mit Leucocystis cellaris etc.	Prototheca Zopfii, moriformis Krüg.	Chlorella (?) protothecoides Krüg.
Mycacanthococcus cellaris Hansg. (mit Gallerthüllen)	Eomyces Criéanus Ludw. (ohne Gallerthülle)	Protococcoideen
Leucocystis cellaris, Urocystis, Schizocystis Hansg.	Leucocystis (Mycocapsa) Criei Ludw.	Gloeocapsa
Klebsiella (Mycothece) cellaris Hansg. K. urotheca Hansg.	—	Aphanothece, Gloeothece etc.
Ascococcus cellaris Hansg., Chlamydatomus (Hyalococcus) cellaris Hansg.	—	—
Leuconostoc (Schuetzia) Lagerheimii Ludw. var. subterranea Hansg. etc.	Leuconostoc Lagerheimii Ludw. etc.	Nostoc? etc.

Litteratur.

Genossenschaft des Endomyces Magnusii.

1—4) Ludwig, F., Die Alkoholgärung und der Schleimfluß lebender Bäume, verursacht durch Endomyces Magnusii n. sp. und Leuconostoc Lagerheimii n. sp. (Verhandlungen des Bot. Vereins der Provinz Brandenburg. Bd. XXVIII. 1886. p. 4. etc. — Hedwigia. 1886. Heft 5. — Tageblatt der Versammlung Deutscher Naturforscher und Aerzte zu Berlin. 1886. No. 5. — Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft. 1886. Heft 2. p. 17—27.)

5) Hansen, E. Chr., Ueber die in dem Schleimfluß lebender Bäume beobachteten Mikroorganismen — die Oidiumform — Saccharomyces Ludwigii. (Centralbl. für Bakt. und Parasitenk. Bd. V. 1889. p. 632—640, 663—669, 693—694.)

6) Ludwig, F., Weiteres über die Alkoholgärung und die Schleimflüsse lebender Bäume: 3) Die Eichengärung und der Eichenschleimfluß. (Centralbl. für Bakt. und Parasitenk. Bd. VI. 1889. p. 134—137, 162.) 4) Zur Entwickelungsgeschichte des Endomyces Magnusii Ludw. (l. c. p. 163—164.) 5) Die Gäste an den gärenden Eichen. (l. c. p. 164—165.)

7) Hansen, E. Chr., Sur la production des variétés chez les Saccharomyces. (Ann. de Micrographie. T. II. No. 5. p. 214. — Centralbl. für Bakt. und Parasitenk. Bd. VII. 1890. p. 795.)

8) — —, Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques. VIII. Sur la germination des spores chez les Saccharomyces. (Compt. rend.

des travaux du laborat. de Carlsberg. Vol. VIII. Livr. 1. Kopenhagen 1891. avec Fig. 5—7. — Centralbl. für Bakt. und Parasitenk. Bd. IX. 1891. p. 663.)

9) Jörgensen, Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie. Kopenhagen 1890. p. 138.

10) Zopf, Die Pilze. (Schenk, Handbuch der Botanik. Bd. IV. p. 703. etc. Fig. 135.)

11) Brefeld, O., Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie. 1891. Heft 9. p. 124—134.

12) Ludwig, F., Ueber einen neuen Verwandten des Essigälchens; Rhabditis dryophila in den Produkten der Eichenrindengärung. (Der Naturwissenschaftler. 1887. No. 1.)

13) — —, Ueber die Verbreiter der Alkoholgärung und des Schleimflusses der Eichen und verwandter Baumkrankheiten. (Deutsche Botanische Monatsschrift. Bd. VII. 1890. No. 5/6.)

14) — —, Neue Untersuchungen über die Mikroorganismen der Gärungsindustrie. (Wissenschaftliche Rundschau der Münchener Neuesten Nachrichten. 1890. No. 425.)

15) — —, Lehrbuch der niederen Kryptogamen. Stuttgart 1892. p. 89. (Leuconostoc) p. 196—202, 207, 218—219. Fig. 6.

10) von Tavel, Vergleichende Morphologie der Pilze. Jena 1892. p. 54—55.

17) Hansen, E. Chr., Kritische Untersuchungen über einige von Ludwig und Brefeld beschriebene Oidium- und Hefeformen. (Botanische Zeitung. 1892. No. 19. p. 312 ff.)

18) Ludwig, F., Bemerkungen zu Hansen's Oidium Ludwigii und von Tavel's Endomyces Ludwigii. (Botanische Zeitung. 1892. No. 48. p. 793 —794.)

19) Bay, J. Christian, The spore-forming species of the genus Saccharomyces. (The American Naturalist. St. Louis. 1. August. 1893.)

20) Fischer, Emil und Tierfelder, Hans. Verhalten der verschiedenen Züchter gegen reine Hefen. (cf. 21.)

21) Fischer, E., Einfluß der Konfiguration auf die Wirkung der Enzyme. (Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft. Bd. XXVII. 1894. p. 2031, 2985, 3479. Naturwissenschaftliche Rundschau. Bd. X. No. 9. p. 105 etc.)

22) Nielsen, J. Chr., Sur le développement des spores du Saccharomyces membranaefaciens, du Sacch. Ludwigii et du Sacch. anomalus. (Compt. rend. des trav. du laboratoire de Carlsberg. Vol. III. 1894. Livr. 3. p. 176—182. — Bot. Centralbl. Bd. IV. 1894. Heft 7. p. 489. — Centralbl. für Bakt. und Parasitenk. II. Abt. Bd. I. 1895. p. 187 ff.)

23) Ludwig, F., Schleimfluß und Alkoholgärung der Eichen. (Forstlich naturwissenschaftl. Zeitschr. 1894. p. 337—339.)

24) Ludwig, F., Die Alkoholgärung der Eichen im Jahre 1894. (Ibid. p. 523—524.)

25) Lindau, G., Die Organismen im Saftflusse der Laubbäume. (Naturwiss. Wochenschrift. Bd. IX. 1894. No. 52. p. 631.)

26) von Tubeuf, Lehrbuch der Pflanzenkrankheiten. Jena 1895.

27) Ludwig, F., Ueber den Essigfluß an lebenden Bäumen. („Unser Vogtland". Leipzig 1895. Bd. II. Heft 1. p. 37 ff. — Vgl. auch von Lagerheim (37) p. 4, 5. — Zopf, Beitr. zur Physiol. und Morphologie niederer Organismen. — Alfr. Koch und Horaeus, Centralbl. für Bakt. Bd. XVI. Heft 1. p. 225 ff. — Beyerinck, Centralbl. für Bakt. Bd. XVI. p. 50.)

28) Beyerinck, M. W., Kulturversuche mit Amöben auf festen Substraten. (Centralbl. für Bakt. und Parasitenk. I. Abt. Bd. XIX. 1896. p. 257—267. T. VII.)

29) Glaser, Fritz, Ueber eine froschlaichartige Ausscheidung in Rübenzucker. (l. c. II. Abt. Bd. I. No. 25. p. 879.)

Genossenschaft der Torula monilioides etc.
Schwarze und rote Gummose.

30) Ludwig, F., Der braune Schleimfluß, eine neue Krankheit unserer Aepfelbäume etc. (Centralbl. für Bakt. und Parasitenk. Bd. IV. 1888. p. 323—324.)

31) — —, Weiteres über den braunen Schleimfluß. (Ibid. p. 453.)

32) — —, Die braunen etc. Schleimflüsse lebender Bäume. (Ibid. Bd. VI. 1889. p. 134.)

33) — —, Krankheiten der Chausseebäume in Thüringen und der schwarze Schleimfluß. (Deutsche Botanische Monatsschrift. Bd. VII. 1889. No. 9/10.)

34) Ludwig, F., Neue Beobachtungen über Pilz- und Gummiflüsse der Bäume. 1) Eine neue Gummose der Hainbuche. 2) Krankheiten der eßbaren Kastanie in Frankreich. (Centralbl. für Bakt. und Parasitenk. Bd. XVI. 1894. p. 58—61.)
35) — —, Dendropathologische Notizen. (Forstlich naturwissenschaftliche Zeitschrift. 1894. p. 337—339.) Vgl. auch Ludwig, Lehrbuch der niederen Kryptogamen (15) p. 91—92, 203—204, ferner G. Lindau (25), von Tubeuf (26).

Organismen im Milchfluß, Rotfluß, Moschusfluß Ascoidea etc.

36) Ludwig, F., Der Milch- und Rotfluß der Bäume und ihre Urheber. (Centralbl. für Bakt. und Parasitenk. Bd. X. 1891. p. 10—13.)
37) Peck, Ch., Saccharomyces Betulae Pk. et Pat. (44the Ann. Rep. of the State Botanist of New York. Albany 1891. p. 30. Fig. 15 und 16.)
38) Ludwig, F., Ueber das Vorkommen des Moschuspilzes im Saftfluß der Bäume. (Centralbl. für Bakt. und Parasitenk. Bd. X. 1891. p. 214.)
39) Eyfert, B., Zur Entwickelungsgesch. des Selenosporium aquaeductuum. (Bot. Ztg. 1882. p. 691. Tab. VIII A.)
40) Kitasato, S., Ueber den Moschuspilz. (Centralbl. für Bakt. und Parasitenk. Bd. V. 1889. p. 365—370. M. 5 Figuren.)
41) Heller, Julius, Zur Kenntnis des Moschuspilzes. (l. c. Bd. VI. 1889. p. 97—105 m. 3 Figuren.)
42) G. von Lagerheim, Ueber Fusarium aquaeductuum. (Centralbl. für Bakt. und Parasitenk. Bd. IX. 1891. p. 655. etc. Mit 6 Taf.)
43) Glück, Hugo, Ueber den Moschuspilz und seinen genetischen Zusammenhang mit einem Ascomyceten. (Hedwigia. Bd. XXXIV. 1895. Heft 5. p. 254 ff.)
44) — —, Dipodascus albidus, eine neue geschlechtliche Hemiascee. (Pringsheim's Jahrb. für wissensch. Botanik. Bd. XXIV. 1892. Heft 4. Sep.-Abdr. 19 S. 3 Taf.)
45) Sorokin, N., Eine neue Spirillumart. (Centralbl. für Bakt. und Parasitenk. Bd. I. 1887. p. 465—466.)
46) Brefeld, O., Ueber Ascoidea. (Untersuchungen aus dem Gesamtgebiet der Mykol. 1891. Heft 9. p. 94—108.)
47) Ludwig, F., Ein neuer Pilzfluß der Waldbäume und der Ascobolus Costantini Roll. (Forstl. naturwissensch. Zeitschr. 1893. Heft 1. p. 1—3.)
48) Rolland, L., Sur l'Ascobulus Costantini Roll. (Bull. Soc. myc. de France. 1888. fasc. 2. p. 56 ff. planche XV. Fig. 1.)
49) Ludwig, F., Die Fruchtformen und das natürliche System der Pilze. (Mitteil. d. Thüring. Bot. Vereins. Neue Folge. Heft 1. — Vgl. auch Lehrb. d. nied. Krypt. (15) p. 202—203.)
50) — —, Naturerscheinungen und Volkssagen. („Unser Vogtland". Leipzig 1895. Bd. II. Heft 4. p. 131.)

Algen und Pilzalgen der Baumflußgenossenschaften.

51) Ludwig, F., Der schwarze Schleimfluß. (Deutsche Bot. Monatsschr. Bd. VII. 1889. p. 9—10.)
52) — —, Schwarzer Fluß der Rotbuche. (Forstl. naturwissensch. Zeitschr. 1893. Heft 1. p. 3.)
53) Krüger, Wilhelm, Beiträge zur Kenntnis der Organismen des Saftflusses der Laubbäume. (Zopf's Beitr. z. Physiol. u. Morph. niederer Organismen. Heft 4. Leipzig 1894. p. 69—115. Taf. IV u. V.)
54) Ludwig, F., Ueber einen neuen pilzlichen Organismus im braunen Schleimfluß der Roßkastanie, Eomyces Criéanus. (Centralbl. für Bakt. und Parasitenk. Bd. XVI. 1894. p. 905—908. — Sitzungsber. d. D. B. Ges. 28. Dez. Ber. Bd. XII. 1894. Heft 10. p. 343. — Naturwissensch. Rundschau. Bd. X. 1895. No. 9. p. 113.)
55) — —, Ueber einen neuen Pilz im Schleimfluß der Apfelbäume, Leucocystis Criéi n. sp. und über die Verwandtschaft der Organismen der Baumflüsse mit denen der Keller- und Grottenflora. (Hedwigia. Bd. XXXIV. 1895. p. 191—194.)
56) Hansgirg, Physiologische und phycophytologische Untersuchungen. Prag 1894.

Referate.

von Istvánffi, Gy., Ueber die Rolle der Zellkerne bei der Entwickelung der Pilze. (Berichte d. Deutschen Botanischen Gesellschaft. Bd. XIII. 1895. p. 452—467. Mit Tafel 35—37.)

Die Aufgabe, die Ref. sich gestellt hatte, war die Untersuchung der Zellkerne auf dem Wege der Kulturen durch den ganzen Entwickelungsgang der Pilze.

Zygomyceten.

Auf dem Wege der Kulturen hat Ref. seine früheren Beobachtungen[1]) ergänzt. Die Mucor-Sporen sind immer einkernig (Fig. 1), kurz vor der Keimung tritt aber eine rapide Vermehrung der Kerne auf, so daß, wenn die Anlage des Keimschlauches erscheint, die Spore schon mit 8—10 Kernen ausgestattet ist (Fig. 2). Wenn der junge Keimschlauch schon ausreichend viel Zellkerne besitzt, beginnt die Zweigbildung, die jungen Zweiganlagen werden immer in der unmittelbaren Nähe eines Zellkernes präformiert. Das junge Mycel wächst sehr schnell und dementsprechend vermehren sich auch die Kerne in einem rapiden Tempo (Fig. 3). In den letzten Verzweigungen des Mycels, in den kaum 1 μ dicken Aestchen, sind die Zellkerne noch immer gut nachweisbar (Fig. 5). Die Kerne wandern massenhaft in den Stiel des Fruchtträgers und versammeln sich im oberen Ende der jungen Fruchtanlage (Fig. 6). Diese Anlage schwillt später um ein beträchtliches auf und entsteht daraus das Sporangium (Fig. 7). — Wenn das junge Sporangium durch die Columella abgeschlossen ist, treten auch die Sporen auf (Fig. 8), und zwar ist die Zahl der Sporen ganz unabhängig von den vorhandenen Zellkernen; die Zellkerne, die zur Sporenbildung nicht verbraucht werden, sowie das übrig gebliebene Protoplasma werden dann in Schleim verwandelt. Infolge der schlechteren Ernährung wurden in den Sporangien nur sehr wenige, zwei oder sogar nur eine Spore gebildet (Fig. 8 und 9), die natürlicherweise größer waren als die gewöhnlichen Sporen; immer aber fand sich in jeder Spore nur ein Zellkern.

Bei Mortierella candelabrum fand Ref. die Kerne ebenfalls schön ausgebildet (Fig. 13). Bei Coemansia reversa ist ferner die Einwanderung der Sporen in die jungen Konidienanlagen ganz gut zu verfolgen (Fig. 12).

Ref. untersuchte auch die Zygoten von Sizygites megalosperma und fand die Zygoten von Sizygites thatsächlich mehrkernig, wie er dies schon im Jahre 1889 beschrieben hat.

Die Kerne der Zygomyceten bilden elliptische oder rundliche Körperchen, die gewöhnlich auch mit einem Kernchen ausgestattet

---

1) Istvánffi, A penészek sejtmagváról. [De fungorum nucleis.] (Magyar Növénytani Lapok. XIII. 1889. p. 33—46.)

sind. Die jüngsten Kerne, z. B. in den letzten Hyphenendigungen, treten als cylindrische, sich homogen färbende Bildungen auf, deren Dicke oft nicht einmal 1 μ erreicht.

Oomyceten.

Die Kerne von den Saprolegnieen sind ziemlich groß und gewöhnlich mit einem Nukleolus ausgestattet (Fig. 14). Nicht selten trifft man zweierlei Kerne in den Fäden, nämlich größere und solche von geringerem Durchmesser (Fig. 14). Bei der Bildung der Zoosporen wandert das Protoplasma gegen das obere Ende der Fäden, das keulenförmig aufschwillt (Fig. 16) und es werden ebensoviele Zoosporen gebildet als Kerne vorhanden waren. Oft werden die dünnen Fäden direkt zu Zoosporangien, der Inhalt wird in Zoosporen zergliedert (Fig. 17, 18).

Die Oogonien von Saprolegnia ferax und S. asterospora (Fig. 19—21) erscheinen in den ersten Anlagen als kleine runde Anschwellungen an den Fadenspitzen, eventuell aber auch intercalar. Die jungen Anlagen (Fig. 19) sind von dichtem, fettreichem Plasma erfüllt, so daß man die Kerne nur nach besonderer Behandlung sichtbar machen kann (Fig. 20, 21). In den jungen Oogonien fand Ref. immer viele Zellkerne vor, die ausgebildeten Sporen enthalten ebenfalls viele Kerne und nach der Befruchtung sind die Sporen ebenfalls mit mehreren Kernen ausgestattet. Die Mehrkernigkeit wird also bei diesen erwähnten zwei Arten durch die ganze Entwickelung aufrecht erhalten.

Cystopus Portulaccae. Das schlauchförmige Mycel ist vielkernig. Die Anlagen der Oogonien erscheinen an den Fadenenden. Aus dem Stiele des Oogoniums dringt das Plasma strahlenförmig in das Innere des Oogoniums und verteilt sich dann hier (Fig. 23) netzförmig, in den Maschen des Netzwerkes sitzen die Zellkerne (Fig. 24). Die Oospore bildet sich aus dem netzigen Plasma (Fig. 25). Das Epiplasma liefert inzwischen die braune, mit netzförmigen Verdickungen verzierte dicke Membran der Oosphaere. Die Anlage der Oosphaere erfolgt aber scheinbar nur nach der Befruchtung, denn das Antheridium, das als ein vielkerniger Schlauch auftritt (Fig. 24), ist schon an dem netzig-strahligen Struktur zeigenden Oogonium zu erkennen, zur Zeit also, wo von einer Oosphäre noch keine Spuren zu sehen sind, als aber jene schon vorgebildet, ist das Antheridium bereits entleert. Die Befruchtung erfolgt auch hier höchstwahrscheinlich nur durch die Vermischung der Zellkerne beiderlei Sexualorgane. Nach Dangeard sind die Sexualorgane ebenfalls mehrkernig, so wie Ref. es nachgewiesen, in der reifen Oospore hat er aber die Zellkerne nicht nachweisen können [1]), seine diesbezüglichen Zeichnungen zeigen auch keine näheren Details.

Ustilaginei.

Die Beobachtungen von Schmitz, Fisch (1885) und Möller (1892), hat auch Zimmermann in sein Sammelreferat über die

1) Dangeard, Recherches histologiques sur les Champignons. (Le Botaniste. 2. série. T. VII. 1890. Fig. 1—16.)

Litteratur der Zellenlehre aufgenommen [1]), doch hat er inzwischen die Arbeit des Ref. ignoriert. In dieser hat Ref. doch schon drei Jahre früher (1889) als Möller seine Untersuchungen über die Zellkerne der Ustilaginei mitgeteilt und sogar auch die Teilung der Kerne beschrieben.

Die Brandpilzkonidien erhalten gleich nach ihrer Anlage einen Kern aus der Mutterzelle des Promyceliums (Fig. 26). Der Kern rückt sogleich in die Mitte des Konidiums. Die jungen Tochterkerne (Fig. 27, 29) rücken gleich an ihre Stelle, wo eben ein junger Sproß angelegt wird und dringen gleich in die Tochterzelle ein. Bei sehr lebhafter Teilung finden wir gewöhnlich drei Kerne in den Hefekonidien. Die polaren Kerne vermehren sich dann immer nach dem jeweiligen Bedürfnis; so teilt sich nur derjenige, in dessen Nähe ein neuer Sproß angelegt werden soll, wie dies z. B. in den Konidien von Ustilago cruenta (Fig. 29) dargestellt ist. In den kleinen, abgerundeten Konidien von Ustilago antherarum waren die Kerne — wie übrigens auch bei den meisten anderen Brandarten — auch ohne Färbung zu erkennen und teilten sich in einem sehr raschen Tempo, womit die Sprossung selbst nicht Schritt halten konnte.

Bei Ustilago cruenta werden die sporenbildenden Hyphen einfach in einzelne Glieder, d. i. in Chlamydosporen, zerteilt, zuerst aber erhält ein jedes Glied einen Zellkern. Bei Ustilago maydis, wie auch bei Ustilago cruenta kommt aber auch eine andere Art der Sporenbildung vor. Die sporigenen Hyphen bilden ihrerseits viele Kurztriebe, die sich dann direkt in Sporen umwandeln (Fig. 28). Bei Tilletia (Neovossia) Moliniae werden die Sporen aus den keulenförmig aufgeschwollenen Hyphenenden gebildet, wie Ref. dies in den mit 30 bezeichneten Abbildungen vorgeführt hat.

Ascomycetes.

Von den Ascomyceten boten besonders die Flechtenspermatien ein interessantes Material. Ref. untersuchte die frischen, mit Osmiumsäure fixierten Spermatien von Buellia punctiformis, Opegrapha subsiderella, Mallotium Hildebrandii, Calycium trachelinum, Pertusaria communis, Arthronia communis, und konnte in den winzig kleinen Zellen die Anwesenheit des Zellkernes immer konstatieren, und das junge, aus dem Spermatium entstandene Mycel enthielt in jeder Gliedzelle einen Kern, auch wurden die Verzweigungen, in ähnlicher Weise wie bei den übrigen Mycelien, immer durch die Zellkerne beherrscht und eingeleitet (Fig. 31).

Die künstlichen Kulturen auf Brot brachten eine sehr üppige Sphaceliavegetation hervor, in deren starken Hyphen die Kerne lebhafte Teilungen zeigten (Fig. 32). Bei der Abschnürung der winzigen ($2{,}4 \times 7\ \mu$) Konidien trat immer in die präformierte Anlage der Kern ein, und nach der Abschnürung vermehrte sich der Mutter-

---

1) Zimmermann, Sammelreferate aus dem Gesamtgebiete der Zellenlehre. (Beiheft 7. Botan. Centralbl. III. 1893. p. 422.)

kern weiter, um auch die neuen Konidien mit Kernen versehen zu können (Fig. 32*b*).

Uredinei.

Bei den Uredineen hat Ref. im Mycel ziemlich große Zellkerne nachgewiesen, die sich in lebhafter Teilung befanden. Die halbreifen Aecidiosporen (z. B. Aecidium elongatum) sind in der Regel immer zweikernig, die junge Spore erhält von dem Basidium zwar einen Kern, dieser teilt sich aber alsbald (Fig. 33). In den ganz ausgereiften Aecidiosporen ist aber nur ein Kern sichtbar, wahrscheinlicherweise muß hier eine Verschmelzung stattfinden. Poirault und Raciborski, entgegen Rosen und Dangeard, halten dafür, daß hier keine Verschmelzung stattfindet, wenigstens fanden sie bei den von ihnen untersuchten Arten in den Aecidiosporen immer zwei Kerne vor.

Tremellini.

Dacryomyces chrysocomus. Die ganz jungen, dünnen, fadenförmigen Basidien enthalten nur einen Kern (Fig. 36), der sich später zu wiederholten Malen teilt. Die Kerne ordnen sich alsbald in eine Linie und wandern paarweise in die zwei Aeste hinein. Die junge Spore erhält aber nur einen Kern, der andere bleibt zurück, ebenso bei Tremella lutescens, Nematelia etc.

Tremella Genistae bildet ziemlich große birnförmige Basidien, die später in vier Segmente geteilt werden, dann erst erfolgt die Sterigmenbildung. Die junge Basidie (Fig. 34) ist auch hier einkernig, bei der Teilung des Mutterkerns treten schon fädige Differenzierungen auf.

Die Oidien der Dacryomyceten sind ebenfalls mit Kernen versehen, z. B. bei Dacryomyces deliquescens (Fig. 37*a*). Die Tochterkerne nehmen bei den Oidien gleich die Pole ein und teilen sich dort. Die Oidien wachsen später zu Fäden aus (Fig. 37*b*); die Spitze des Keimfadens wird immer von einem Kern eingenommen, der in lebhafter Teilung das Wachstum beherrscht; auch bei der Bildung der Verzweigungen sehen wir die Kerne thätig. Die Oidien bilden auch Konidien; jede Konidie erhält einen Kern von der Mutterzelle (Fig. 37*c*), so auch bei Dacryomyces chrysocomus, Dacr. stellatus etc.

Hymenomycetes.

Das Mycel der Hymenomyceten ist, wie Ref. dies schon 1889 nachgewiesen, immer mit Kernen versehen. Die Kerne sind für gewöhnlich von beträchtlicher Größe und enthalten oft auch ein Kernkörperchen. Ref. erwähnt Stropharia melanosperma, besonders wegen der Schnallenzellenbildung, hier, wie auch bei den anderen ähnliche Differenzierungen hervorbringenden Arten, konnte nachgewiesen werden, daß die Schnallenbildung immer durch die Anwesenheit des Kernes eingeleitet wird. Aber eine Fusion des in dem Schnallenarme befindlichen Kernes mit dem Kerne der Nachbarzelle findet nie statt. Die Mycelkerne teilen sich gewöhnlich in zwei

Tochterkerne, manchmal kommen aber auch direkte Teilungen vor (Fig. 38 c). Die Zellteilung erfolgt gewöhnlich im langsameren Tempo als die Kerne sich vermehren, und so finden wir bei dem Mycel der Hymenomyceten sehr oft eine Mehrkernigkeit vorhanden, z. B. Merulius fugax (Fig. 39), Polyporus dryadeus (Fig. 40) und Panus stipticus (Fig. 41) sind schöne Beispiele für das typische dünne Mycel; hier sind ebenfalls mehrere Kerne in denselben Zellen sichtbar und interessant ist es dabei, daß die Kerne dem engen Lumen entsprechend eine cylindrische Gestalt angenommen haben.

Oligoporus (Polyporus) annosus. Die Sporen führen immer einen Kern, der sich gleich bei den Keimungserscheinungen teilt, die Kerne vermehren sich dann sehr schnell und bald ist der ganze Keimschlauch mit Kernen versehen (Fig. 41 ¹⁻⁷). Die Konidienkeimung hat auch einen ähnlichen Verlauf. Die rapide Vermehrung der Kerne gegen die Schlauchspitze ist wirklich überraschend, 12 bis 14 Kerne fanden sich in der Scheitelzelle, der großen Zahl entsprechend ist auch die Größe der Kerne; je zahlreicher die Kerne, desto kleiner sind sie ausgebildet. Im ausgewachsenen Mycel von Olygoporus annosus (Fig. 42 ⁹) sind die Kerne ziemlich groß und teilen sich auch direkterweise. Bei der Anlage der Fruchtträger beginnt sogleich eine auffallende Wanderung der Zellkerne gegen den Scheitel des Trägers (Fig. 42 ¹⁰) und entstehen an der Peripherie die ersten Spuren der Sterigmen (Fig. 42 ¹¹), die als äußerst dünne fadenförmige Bildungen erscheinen; gleich bei ihrer Anlage erkennt man schon am freien Ende die junge Spore als eine kaum merkliche Verdickung. In Anbetracht der Feinheit der Sterigmen müssen die Zellkerne eine möglichst geringe Größe erlangen. Dies wird eben durch die in dem Fruchtträger stattfindenden wiederholten Kernteilungen erreicht, dadurch werden die Kerne bis zu den erwünschten Dimensionen reduziert (Fig. 42 ¹⁸).

Nyctalis parasitica. Die künstlich kultivierten Chlamydosporen sind in dem jüngsten Zustande mit einem Kern versehen, der sich alsobald teilt, die Fäden der Chromosomensterne ordnen sich erst parallel, dann senkrecht zu einander uud erfolgt dann die Teilung in zwei Gruppen; die Tochtersterne bilden sich dann zu zwei Kernen aus und sind somit die Nyctalis-Chlamydosporen später immer zweikernig. Dangeard hat neuerdings bei N. asterophora (er nennt sie fälschlicherweise N. parasitica) ebenfalls zwei Kerne gesehen, die Teilungsfiguren sind ihm aber verborgen geblieben.

Oligoporus (Ptychogaster) ustilaginoides bildet auch intercalare Chlamydosporen, gleichzeitig aber zwischen je zwei Sporen eine Schnallenverbindung. Die junge Chlamydospore (Fig. 45) enthält immer einen Fettkörper und einen kleinen Kern, die Schnalle erhält von der Mutterzelle ebenfalls einen Kern, der aber mit dem Kerne der Nachbarzelle nicht fusioniert, somit bleiben die Chlamydosporen hier einkernig. Das Mycel von Oligoporus (Plychogaster albus hat einen sehr instruktiven Fall für die Schnallenbindung mit gleichzeitiger Verzweigung (Fig. 44).

Fistulina hepatica. Die jungen Sporen enthalten nur einen

Kern, der aber wegen der nachfolgenden Zellteilungen später in zwei Tochterkerne geteilt wird (Fig. 47 [1 2 3]). Die fertigen Chlamydosporen führen immer einen Kern und sind auch die Trägerglieder mit einem Kerne ausgestattet.

Die Oidienform der Chlamydosporen lieferte auch ein ausgezeichnetes Material zur Untersuchung der Zellkerne.

Psathyra spadiceo-grisea ist wegen seiner winzigen Oidien bekannt; bei 5 μ Länge messen sie kaum 0,8 μ in der Dicke, die einzelnen Oidien führen für gewöhnlich zwei Kerne, an jedem Pole einen (Fig. 46). Es ist dies natürlich die Folge der raschen Teilungen; in anderen Ketten, die schon aus längeren Gliedern bestehen, finden wir in den Oidien nur noch einen Kern.

Galera tenera bildet ebenfalls gekrümmte Oidien, in denen die Zellkerne sicher nachweisbar sind (Fig. 50), wegen der Aehnlichkeit erwähne ich hier auch Auricularia sambucina mit seiner eigentümlichen Sporenkeimung (Fig. 52).

Collybia tuberosa besitzt große, mächtige Oidien von 12 bis 15 μ Länge und 4 μ Dicke, die in verzweigten Fäden gebildet werden (Fig. 48); diese sind immer mit einem großen runden Kerne ausgestattet.

Die Basidienfrucht hat Ref. bei sehr vielen Arten untersucht, das Verhalten der Zellkerne ist dabei verschieden, je nachdem ob die Basidie noch fruktifikativ bleibt oder aber ihre sporenbildende Kraft für immer erlischt.

Bei Pilacre Petersii ist die junge Basidie mit einem Kerne versehen (Fig. 51), der später auf vier Tochterkerne geteilt wird, die in die jungen Sporen einwandern, so auch bei Exobasidium Vaccinii; bei Hydnangium carneum (Fig. 49), dagegen erhalten die jungen Sporen nur die Derivate des Urmutterkerns. Bei dieser Art ist die Auswanderung der Kerne besonders schön zu beobachten, da die Sterigmen ausnahmsweise lange fädige Bildungen darstellen. Die Basidie ist hier auch nach der Sporenreife mit Kern versehen, kann also auch weiter Sporen bilden und fruktifizieren. Die Konidienfrucht von Pilacre zeigt die gewöhnliche Einwanderung der Kerne (Fig. 51). Als letztes Beispiel erwähne ich noch die Fettzellen von Hypochnus (Fig. 53), die mit einem großen Kerne versehen sind.

Resultate.

Der Zellkern kommt bei den sämtlichen vegetativen und fruktifikativen Zuständen der Pilze vor.

Der Zellkern spielt in der Entwickelung der Pilze eine hervorragende Rolle, besonders gilt dies bei der Bildung von Verzweigungen, die immer in der Nähe des Zellkerns angelegt werden.

Eine Kopulation der Zellkerne findet bei der Zygosporenbildung der Mucorini nicht statt, ebensowenig tritt eine Verschmelzung der Kerne bei der Schnallenzellenbildung auf; es konnte ferner eine Fusion der Kerne auch bei den Saprolegniaceen nicht konstatiert werden.

Infolge der raschen Vermehrung der Zellkerne kommt bei sämtlichen Eumyceten vorübergehenderweise eine Periode der Vielkernigkeit vor.

Die Wanderung der Kerne kann bei den meisten Fruchtbildungen konstatiert werden.

Bei einer und derselben Art sind die Kerne, je nach den morphologischen Partieen, in denen sie vorkommen, von verschiedener Größe.

Die Kerne der Pilze vermehren sich in der Regel durch Zweiteilung und zwar direkterweise, oder aber es entstehen dabei karyokinetische Figuren; ausnahmsweise findet auch eine Zerklüftung in mehrere Partieen statt.

Der Kern der Pilze kann als der die Entwickelung regierende Motor angesprochen werden. Autoreferat.

Omelianski, V., Sur la fermentation de la cellulose. (Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences de Paris. 4. Novembre 1895.)

Daß die Vergärung der Cellulose nicht, wie man seit van Tieghem's Untersuchungen anzunehmen pflegte, auf die Thätigkeit des Bacillus Amylobacter zurückzuführen sei, ist längst anerkannt, seitdem man überhaupt diese Art als ein Konglomerat der verschiedensten Organismen erkannt hat. Weder van Senus, noch Koch, noch Beyerinck, noch den anderen Forschern, die sich mit der Sache beschäftigten, gelang es, eine Celluloselösung durch Reinkulturen von Amylobacter-Formen zu erzielen.

Omelianski hat in Winogradsky's Laboratorium und unter dessen Leitung den Urheber der Cellulosegärung isoliert und seine Wirkung näher studiert. Auch hier bediente sich der Verf. der Culture élective mit dem besten Erfolg. Er operierte mit Lösungen von Kaliumphosphat, Magnesium- und Ammonsulfat, denen schwedisches Filtrierpapier und etwas Kreide zugefügt wurde. Das Ausgangsmaterial, mit dem die erste Gärung angesetzt war, bildete Newaschlamm. Die Kulturen wurden natürlich bei Luftabschluß gehalten. Das Filtrierpapier wurde bald durchscheinend, verschleimte und verschwand endlich fast völlig, während zugleich die Kreide gelöst wurde. Aus dem ersten Kolben wurden nun successive weitere infiziert. Das Gelingen der Infektion sicherte man durch Zusatz einer Spur von Gummi arabicum zu der Nährlösung.

Der Organismus der Cellulosegärung fand sich auf dem Papier; er bildet außerordentlich zarte Stäbchen von 6—7 μ Länge und 0,2—0,3 μ Breite, die in einer endständigen, runden Anschwellung die kugelförmigen Sporen von 1 μ Durchmesser bilden. Die Isolierung des Bacillus wurde erreicht, indem das Impfmaterial bei wiederholten Uebertragungen 20 Minuten auf 90° erhitzt und dann anaërobe Kartoffelkulturen damit angestellt wurden. Die letzteren gelingen nur, wenn nur wenige fremde Keime in dem Aussaatmaterial vorhanden sind, und das Wachstum des Bacillus auf den Kartoffelkulturen ist stets sehr schwach: die Kolonien sind nach mehrtägiger Vegetation sehr klein, durchscheinend, gelblich und von halbflüssiger Konsistenz, zeigen also nichts Charakteristisches.

Der ausführlichen Veröffentlichung, die uns auch mit den physio-

logischen Eigenschaften des Mikroorganismus der Cellulosegärung bekannt machen wird, darf mit hohem Interesse entgegengesehen werden.
Behrens (Karlsruhe).

Hantke, Inwieweit stimmen die Gärversuche im Kleinen (Laboratoriumsversuche) mit den Gärungen in der Praxis überein? (Der Amerikanische Bierbrauer. 1896. No. 4. p. 213; Wochenschr. f. Brauerei. 1896. p. 428.)

Die vergleichenden Gärversuche, deren Resultate in ausführlicher Tabelle zusammengestellt sind, ergeben etwa Folgendes:

1) Die Farbentonverminderung infolge der Gärung ist im Laboratorium und im Betrieb gleich.

2) Durch die Gärung im Laboratorium bei 15° R wird die Hauptmenge der Kohlensäure in 24 Stunden entwickelt, im Durchschnitt $^2/_3$ bis $^3/_4$ der Gesamtkohlensäure.

3) Der Verlust an Gesamtextrakt ist im Durchschnitt im Laboratorium größer als bei der Gärung im Keller.

4) Fehling'sche Lösung reduzierende Substanzen (Rohmaltose) vergären ebenfalls im Laboratorium in größerem Maße als im Keller.

5) Der Gärverlust an Stickstoffkörpern ist im Laboratorium bei der warmen und schnellen Gärung bedeutend geringer als im Betrieb.

Die Unterschiede betreffs des Verhaltens der stickstoffhaltigen Körper sind so beträchtlich, daß der Verfasser näher darauf eingeht und drei verschiedene Ursachen für die Differenzen vermutet. Durch weitere Untersuchungen will der Verfasser später seine Vermutungen zu begründen suchen. Munsche (Wandsbek-Hamburg).

v. Schukow, Iwan, Gär- und Konkurrenzversuche mit verschiedenen Hefen. Auch ein Beitrag zur natürlichen Reinzucht. [Aus der Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei.]

I. Die Gärversuche.

Die Gärversuche wurden angestellt: 1) mit süßer ungehopfter Würze; 2) mit derselben Würze, sauer, a) am Pediococcus acidi lactici, b) am Bacillus acidi lactici; 3) mit gehopfter Würze ohne und mit Peptonzusatz. Die Gärungen wurden derart eingeleitet, daß 100 ccm in Fläschchen mit Watteverschluß mit je einer Platinöse Hefe an Gelatinekultur geimpft wurden; im Stadium der Angärung (nach 24 Stunden) wurde in Gärflaschen übergegossen, die vorher mit 400 cm derselben Würze beschickt worden waren.

Die Gärung wurde bei 20—22° R und so lange durchgeführt, bis der Verlust der täglich gewogenen Flaschen an Kohlensäure 0,39 in 24 Stunden nicht überstieg.

Die sauren Würzen wurden hergestellt durch Stehenlassen der mit Bacillus acidi lactici geimpften Würze bei 40° R und der mit Pediococcus acidi lactici geimpften Würze bei 33° R durch 24 Stunden, wonach durch Erwärmen auf 70° R sterilisiert wurde.

Die Ergebnisse der Gärversuche sind in nachstehenden Tabellen zusammengestellt:

Tabelle I. Gärversuche in ungehopfter Würze.

No. und Art der Hefe	Sacch.-Anzeige nach der Gärung	Säurezunahme während der Gärung, ausgedrückt in Kubikcentimetern Normalnatron pro 20 ccm Würze	Scheinbarer Vergärungsgrad	Gärdauer Tage	Temperatur	Zusammensetzung der Würze
128 Rasse II (Brennereihefen aus einer Maische isoliert)	2,8	0,2	75,2	13	20—22° Réaumur	Ungehopfte Würze von 11,3° Bllg. — Säure angedrückt in Kubikcentimetern. — Normalnatron pro 20 ccm Würze — 0,2 ccm
129 . . . . (Brennereihefen aus einer Maische isoliert)	9,5	0,1	15,9	13		
130 . . . . (Brennereihefen aus einer Maische isoliert)	4,3	0,2	61,9	14		
80 Prefshefe Rasse I . .	2,7	0,2	76,1	14		
77 Prefshefe Rasse IV .	2,9	0,2	74,3	14		
33 Weifsbierhefe	2,9	0,2	74,3	13		
35 Weifsbierhefe	2,8	0,2	75,2	14		
19 Frohberg (untergärige Brauereihefen)	2,9	0.2	74,3	11		
6 Saaz . . (untergärige Brauereihefen)	4,3	0,15	61,9	11		
Peoria [1])	4,3	0,2	61,9	11		
Octosporus	1,9	0,1	83,2	17		
Pombe	1,8	0,25	84,0	13		
Logos	0,7	0,2	93,8	15		
Apiculatus	9,8	0,1	13,2	10		
274 Anomalus	9,3	0,15	17,7	13		
Exiguus	9,8	0,1	13,2	10		
Ludwigii	9,8	0,05	13,2	10		
Mischungen:						
128 + 129 + 130 . . .	2,9	0,2	74,3	12		
128 + 129	2,9	0,2	74,3	13		
Pombe und Logos	0,3	0,25	97,3	14		
Octosporus und Logos .	0,35	0,2	96,7	16		
Octosporus und Pombe	1,35	0,2	88,05	14		
Rasse II und Octosporus und Pombe	1,25	0,25	88,9	14		
Mit Lüften [2])						
128 + 129 + 130 . . .	2,8	0,2	75,2	12		

Aus dieser Tabelle ersieht man, daß die Hefen: 128, 80, 77, 33 und 35 vom Typus Frohberg, die Hefen: 130 und Peoria vom Typus Saaz sind die Hefen: 129, Apiculatus, Anomalus, Exiguus und Ludwigii sehr wenig, wahrscheinlich nur Dextrose vergären und drei: Logos, Pombe und Octosporus noch weiter als Frohberg vergären.

Wie man schon früher darauf hingewiesen hat, sollen die Hefen Logos und Pombe die Dextrine vergären. Jetzt müssen wir auch Octosporus zu den Hefen rechnen, die die Fähigkeit haben, Dextrine zu vergären, und zwar stimmt in der Vergärung Octosporus speziell mit Pombe überein.

Die Mischungen von den Hefen 128 (Rasse II) + 129 + 130 und 128 (Rasse II) + 129 haben den Vergärungsgrad gegeben,

1) Amerikanische Brennereihefe, welche Herr Prof. Dr. Delbrück aus Peoria (Amerika) mitgebracht hat. — „Naturhefe“ — das Hefengut kommt in dieser Brennerei von selbst in Gärung.

2) Die Würze wurde die ersten 6 Tage täglich 2 Stunden gelüftet.

welchen die Hefe 128 (Rasse II) allein geben kann. Die Lüftung hat den Vergärungsgrad nicht verändert.

Die Mischungen von den Hefen:

a) Logos + Pombe,
b) Logos + Octosporus,
c) Octosporus + Pombe,
d) Octosporus + Pombe + Rasse II

vergären die Würze weiter, als jede von den Arten allein. Besonders weit vergären die Mischungen:

a) Logos + Pombe und
b) Logos + Octosporus.

Die so weit vergärenden Mischungen könnten mit Nutzen in Brennereien eingeführt werden, wenn sie sich in der Praxis so bewährten wie im Laboratorium, und wenn diese Einführung nicht zu viele praktische Schwierigkeiten gäbe. Diese Frage können nur die praktischen Versuche entscheiden.

Tabelle II. Gärversuche in saurer, ungehopfter Würze.

No. und Art der Hefe	Sacch.-Anzeige nach der Gärung	Säurezunahme während der Gärung	Scheinbarer Vergärungsgrad	Temperatur	Gärdauer	Zusammensetzung der Würze
128 Rasse II	2,9	Keine Säurezunahme	74,3	20 bis 22° Réaumur	12 bis 13 Tage	Ungehopfte Würze von 11,3 Ballg., sauer von Pediococcus acidi lactici. Säure, ausgedrückt in Kubikcentimetern Normalnatron pro 20 ccm Würze = 0,65 ccm
80 Prefshefe Rasse I	3,0		73,4			
77 Prefshefe Rasse IV	3,0		73,4			
130 Oberg. Brennereihefe Typus Saaz	4,5		60,1			
129	9,6		15,0			
Mischungen						
128 + 129 + 130	3,0		73,4			
128 + 129 + 130 mit Lüften[1])	3,0		73,4			
128 + 129	3,0		73,4			
128 Rasse II	3,0		73,4			Ungehopfte Würze von 11,3° Ballg., sauer von Bacillus acidi lactici. Säure, ausgedrückt in Kubikcentimetern Normalnatron pro 20 ccm Würze = 0,65 ccm
80 Prefshefe Rasse I	3,0		73,4			
77 Prefshefe Rasse IV	3,0		73,4			
130 Oberg. Brennereihefe Typus Saaz	4,5		60,1			

Der Vergärungsgrad in saurer Würze ist fast der nämliche geblieben und die Art der Bakterien hat keinen Einfluß gehabt, aber in saurer Würze haben die Hefen keine Säurezunahme gegeben. Die Lüftung hat auch hier keinen Einfluß auf den Vergärungsgrad gehabt.

1) Die Würze wurde die ersten 6 Tage täglich 2 Stunden gelüftet.

Tabelle III. Gärversuche in gehopfter[1]) peptonisierter Würze.

No. und Art der Hefe	Zusammensetzung der Würze	Sacch.-Anzeige vor der Gärung	Sacch.-Anzeige nach der Gärung	Der scheinbar vergorene Extrakt Proz.
19 Frohberg . . .	Ungehopfte	11,3	2,9	74,3
	Gehopfte	11,25	3,0	73,3
	Gehopfte mit 1 Proz. Pepton	11,85	3,6	69,6
6 Saaz	Ungehopfte	11,3	4,3	61,9
	Gehopfte	11,25	4,5	60,0
	Gehopfte mit 1 Proz. Pepton	11,85	5,1	57,0

Der Hopfenzusatz hat keinen Einfluß auf den Vergärungsgrad gezeigt, nur ging die Gärung etwas langsamer. Der Zusatz von 1 Proz. Pepton zur gehopften Würze hat diesen Unterschied verschwinden lassen. Die Hefen aus den Peptonwürzen lagen viel fester, ihr Aussehen unter dem Mikroskope war viel besser. Was der Verf. nicht besonders hervorhebt, was jedoch recht bemerkenswert ist, ist das Ergebnis, daß der Peptonsatz in beiden Fällen den Vergärungsgrad um rund 4 Proz. erniedrigte, was allerdings weniger darauf schließen läßt, daß weniger Kohlehydrate in diesem Falle vergoren sind, als daß das Pepton nahezu ganz in der Flüssigkeit verblieben ist.

II. Die Konkurrenzversuche.

Für die Konkurrenzversuche wurden drei Hefemischungen benutzt:

1) No. 128 (Rasse II) und No. 129 der Berliner Sammlung,

2) No. 128 (Rasse II), No. 129 und No. 130 der Berliner Sammlung.

Alle drei Hefen waren aus derselben Brennereimaische isoliert. No. 130 ist eine obergärige Hefe vom Typus Saaz. No. 129 ist eine Torulahefe. Die Zahlen für die Zellenverhältnisse in der nachstehenden Tabelle sind nicht genau, sondern sollen nur die Richtung des Konkurrenzkampfes zeigen.

Tabelle I.

Ungehopfte süße Würze von 11,3 Proz. Bllg.
Hefen: No. 128 (Rasse II) und No. 129 (Torula).
Gärtemperatur: 20—22° R.

Aussaat	Zellenverhältnis Rasse II	Zellenverhältnis No. 129 (Torula)
1. Gärung, nach 6 Tagen	50 Proz.	50 Proz.
1. „ „ 16 „	85 „	15 „
2. „ „ 6 „	74 „	26 „
2. „ „ 21 „	96 „	4 „
2. „ „ 30 „	88 „	12 „
3. „ „ 6 „	89 „	11 „
3. „ „ 18 „	98 „	2 „
	87 Proz.	13 Proz.

1) 3 g Hopfen aufs Liter Würze.

Nach der dritten Gärung ist eine fast vollständige Unterdrückung der Hefe 129 und eine starke Vermehrung der Hefe Rasse II zu konstatieren; bleibt aber die vergorene Flüssigkeit längere Zeit stehen, so entwickelt sich die Hefe No. 129 (Torula) weiter und das Zellenverhältnis verändert sich etwas zu Gunsten derselben.

Tabelle II.

Ungehopfte Würze von 11,3° Bllg., sauer von Pediococcus acidi lactici. Säure, ausgedrückt in Kubikcentimetern Normalnatron pro 20 ccm Würze = 0,7 ccm.
Hefen: 128 (Rasse II) und 129.
Gärtemperatur: 20—22° R.

	Zellenverhältnis Rasse II	No. 129 (Torula)
Aussaat	50 Proz.	50 Proz.
Nach 6 Tagen	50 „	50 „
„ 16 „	30 „	70 „
„ 36 „	3 „	97 „

In diesem Falle nimmt man wahr, daß Rasse II zuerst ins Uebergewicht kommt, aber nachher von 129 fast vollständig unterdrückt wird.

Tabelle III.

Ungehopfte Würze von 17,7° Bllg., sauer von Pediococcus acidi lactici. Säure, ausgedrückt in Kubikcentimetern Normalnatron pro 20 ccm Würze = 1,2 ccm.
Hefen: 128 (Rasse II) und 129.
Gärtemperatur: 20—22° R.

	Zellenverhältnis Rasse II	Hefe 129
Bei der Aussaat	3 Proz.	97 Proz.
1. Gärung, nach 24 Stunden	7 „	93 „
2. „ „ 24 „	13 „	87 „
3. „ „ 24 „	25 „	75 „
4. „ „ 24 „	50 „	50 „
5. „ „ 24 „	79 „	21 „
6. „ „ 24 „	94 „	6 „
7. „ „ 24 „	99 „	1 „
1. „ „ 6 Tagen	98 „	2 „
2. „ „ 6 „	99 „	1 „
3. „ „ 6 „	98 „	2 „
4. „ „ 6 „	von etwa 150 gezählten Kolonien keine der Hefe 129 angehörig.	
5. „ „ 6 „	99 Proz.	1 Proz.
6. „ „ 6 „	99,5 „	0,5 „
7. „ „ 6 „	von etwa 170 gezählten Kolonien keine der Hefe 129 angehörig.	
1. „ „ 6 „	99 Proz.	1 Proz.

Beim Ueberimpfen alle 24 Stunden treibt Rasse II die Hefe 129 nach sieben Gärungen aus; wenn man aber diese erste Gärung bis an das Ende gehen läßt, treibt Rasse II die Hefe 129 vollkommen schon bei dieser ersten Gärung aus und beim weiteren Stehenlassen entwickelt sich letztere nicht weiter.

Tabelle IV.

Ungehopfte süße Würze von 11,3° Bllg.
Hefen: 128 (Rasse II) + 129 + 130 (obergärige Brauereihefe, Typus Saaz).
Temperatur: 20—22° R.

	Zellenverhältnis		
Aussaat	Rasse II 33 1/3 Proz.	Hefe 130 33 1/3 Proz.	Hefe 129 33 1/3 Proz.
1. Gärung nach 16 Tagen	70 Proz.		30 „
2. „ „ 6 „	71 Proz.	7 Proz.	22 „
3. „ „ 6 „	95 „	2 „	3 „
4. „ „ 21 „	89 Proz.		11 „

Wie aus dieser Tabelle ersichtlich ist, hat Rasse II nach drei Gärungen Hefe 129 sowie Brauereihefe Saaz ausgetrieben, und nachdem die Gärung beendigt ist, entwickelt sich 129 etwas weiter als im ersten Versuche, und das Verhältnis zwischen normalen Hefen und 129 hat sich zu Gunsten letzterer verändert.

Die Thatsache, daß eine Dextrosehefe wie 129 überhaupt erst nach beendeter Hauptgärung zahlreich sich vermehrt, muß auf eine Neubildung von Dextrose mit Hilfe der Enzyme der nomalen Hefe erklärt werden. Es stellen sich also in einer Gärflüssigkeit von selbst Bedingungen ein, die einer Symbiose verschiedener Hefen günstig sind. Dieses symbiotische Verhältnis kann jedoch in weiten Grenzen schwanken, bezw. ganz aufgehoben werden. In der konzentrierten 17,7 Proz. sauren, ungehopften Würze z. B. verschwindet die Hefe 129 vollständig, jedenfalls infolge des zu hohen Alkoholgehaltes (Vorteile der Dickmaischen in Brennereien).

Andererseits wird uns aber auch aus den Versuchen verständlich gemacht, wie leicht es kommen kann, daß in einem Betriebe sich durch lange Zeiträume hindurch Mischungen verschiedener Hefen erhalten können, wie z. B. van Laer beobachtet hat.

Windisch (Berlin).

Delbrück, M., Die technische Entwickelung des Brennereigewerbes seit 1871. (Vortrag, gehalten auf der Generalversammlung des Vereins der Spiritusfabrikanten in Deutschland. Ergänzungsheft II der Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 1896.)

Die diesjährige Generalversammlung der Spiritusfabrikanten zu Berlin brachte als dritten Gegenstand der Tagesordnung die Maercker-Feier. Geheimrat Prof. Dr. Max Maercker blickt in diesem Jahre auf eine 25-jährige Thätigkeit als wissenschaftlicher Forscher auf dem Gebiete der Spiritusindustrie zurück.

Was Maercker dem deutschen Brennereigewerbe ist, was die technische Entwickelung dieser Industrie demselben zu danken hat, das führte Prof. Dr. Delbrück mit zündenden Worten in dem vor einer zahlreichen Versammlung gehaltenen Festvortrage aus.

Im Jahre 1870 begannen E. Schulze und M. Maercker ihre Studien über den Brennereiprozeß, die sie 1872 im Journal für Land-

wirtschaft veröffentlichten. Inzwischen, im Jahre 1871, erschien der erste Hochdruckdämpfer von Hollefreund. Es kam das Jahr 1873 heran. Maercker sprach zum erstenmale in der Generalversammlung der Spiritusfabrikanten; er sprach über den Vergleich zwischen dem alten und dem Hollefreund'schen Dämpfverfahren. Nach beendetem Vortrage machte Henze die ersten Mitteilungen über seine Erfindung. Das Jahr 1874 brachte wiederum einen Vortrag von Maercker.

Maercker forderte die „Reinlichkeit der Gärung". Die Feststellung dieses Begriffes und die Erkenntnis, daß 20 Proz. eingemaischter Stärke — dies war von Maercker und Schulze auf analytischem Wege festgelegt worden — der alkoholischen Gärung verlustig gingen, gab die Veranlassung zur Gründung der Berliner Station, zu deren Leitung der Vortragende, damals Assistent von Maercker, berufen wurde. 1876 erschien die erste Auflage des Handbuches der Spiritusfabrikation von Maercker.

Im folgenden Jahre publizierte Maercker eine umfassende wissenschaftliche Arbeit, die systematisch zum erstenmale zusammenstellte, was er in siebenjähriger Thätigkeit geschafft hatte. 1878 übernahm Maercker mit dem Vortragenden zusammen die Herausgabe der Zeitschrift des Vereins. 1879 wurde die Versuchsbrennerei in Biesdorf begründet.

Neben diesen wissenschaftlichen Arbeiten wurde auch die maschinentechnische Seite des Brennereigewerbes durchgebildet. Die Wirkung des Hollefreund, des Henze erschien in Bezug auf die Zerkleinerung des Materials noch ungenügend. Man kam auf das Verfahren der Nachzerkleinerung während des Maischens. 1875 erschien der Ellenberger'sche Maischapparat. Andere Erfindungen, die Bohm'sche Maischmühle, diejenige von Paucksch und andere schlossen sich an. Aber auch die Zeit dieser feinsten Zerkleinerung war eine vorübergehende, man lernte den Henze besser behandeln, verbesserte die Konstruktion und so gelang es schließlich, eine genügende Bearbeitung des Materials herbeizuführen, die besonderer Zerkleinerungsvorrichtungen nicht bedurfte. Die Grundlage gab eine Arbeit der Versuchsstation unter Mitwirkung von Stumpf, welche zeigte, daß die Wirkung des Hochdrucks in einer förmlichen Auflösung des Stärkemehls, ja teilweisen Verzuckerung beruhe; das Prinzip wurde die Bewegung während des Dämpfens. Nun folgten weiter Reformen an den Maischbottichen. Hampel in Dresden trat mit seinem Centrifugalmaischsystem hervor. Infolge der starken Bewegung in der Maische wurde eine gute Kühlung hervorgebracht, das Kühlschiff konnte beseitigt werden, wodurch die Arbeitszeit um ein Bedeutendes abgekürzt wurde. Die Destillierapparate erhielten eine große Vervollkommnung. Ilges gelang es, wirklich feinen Sprit in kontinuierlicher Arbeit aus der Maische direkt zu erzielen. Mit der Entwickelung der Apparate schritten auch die gärungs-chemisch-physiologischen Untersuchungen weiter fort.

Zunächst mußten analytische Methoden geschaffen werden. Es

sei hier nur an die bis in die neueste Zeit reichende Ausgestaltung der Methoden erinnert, welche an die Namen Maercker, Reincke, Lintner jun., Munsche (Bestimmung der Stärke nach physiologischer Methode) anknüpfen. Mit analytischen Methoden ausgestattet, konnte an die Untersuchung der Rohmaterialien, Zwischen- und Endprodukte herangegangen werden. Maercker und Schulze fanden, daß in der Kartoffel große Quantitäten der stickstoffhaltigen Bestandteile als Nicht-Eiweißstoffe darin enthalten seien. Holdefleiß übernahm die Bearbeitung neuer Kartoffeltabellen, die später von Behrend, Maercker und Morgen verbessert wurden. Behrend stellte fest, daß die löslichen Eiweißstoffe der Gerste zur diastatischen Kraft des Malzes in Beziehung ständen. Weitere wichtige Arbeiten auf diesem Gebiete liefert Lintner jun., welcher eine Methode feststellte, um die diastatische Kraft zu bestimmen. Auf Grund dieser Methode wurden von Hayduck Untersuchungen ausgeführt, die ergaben, daß eine kleine, lang gewachsene Gerste für Brennzwecke die beste, d. h. die diastasereichste, ist.

Die erste Periode der gärungs-technischen Entwickelung umfaßt die Jahre von etwa 1820 bis 1837, das ist die Thätigkeit der Pistorius und Lüdersdorf. Mit 1837 beginnt die neue Epoche. Es ist das Jahr der Entdeckung Schwann's, der feststellte, daß die Gärung nicht eine Erscheinung rein chemischer Natur, sondern ein Ausfluß der Thätigkeit von Organismen sei. Diese Entdeckung blieb fast vollständig unbeachtet und ungenützt. Noch einmal mußte diese Entdeckung, allerdings auf der alten basierend, gemacht werden. 1857 trat Pasteur mit seiner „vitalen“ Gärungstheorie hervor. An diese schloß sich alsbald die weitere Entdeckung desselben Forschers, daß ein besonderer Pilz die Milchsäuregärung hervorbringe, daß ein besonderer Pilz die Ursache der Buttersäuregärung sei. Aber auch diese thatsächlichen Feststellungen Pasteur's blieben noch lange ungenützt; für die Brennereitechnik brachten sie keine praktische Anwendung.

So war die Situation bis 1870. Von da ab erfolgte mit dem Eintreten Maercker's die Entwickelung Schlag auf Schlag. Die Unreinlichkeit der Gärung mußte beseitigt werden. Maercker und Neale erkannten, daß die Schwergärigkeit gewisser Melassen auf das Vorhandensein von Buttersäure und Ameisensäure zurückzuführen sei. Delbrück zeigte, daß die Temperatur der Maische für die Entwickelung der Bacillen, welche die Säuerung hervorrufen, entscheidend sei und daß eine Temperatur von 40° R zu einer reinen Milchsäuregärung führe. Maercker fand, daß eine dickere Maischung eine reinere Gärung hervorbringe, denn der Alkohol ist selbst ein vorzügliches Spaltpilzgift, wie durch die Arbeiten Traube's festgestellt war. 1879 wurde von Delbrück und Heinzelmann zum ersten Male die Gärbottichkühlung angewandt.

Von diesen Thatsachen ausgehend und gestützt auf die Arbeiten von Brefeld und Nägeli entwickelt Delbrück ein vollständiges System der Gärungsführung zur Erzielung reiner Gärung, auf welches

Lindner in dieser Zeitschrift, lf. Jahrgang p. 38 bei einer Besprechung von Delbrück's Abhandlung „25 Jahre Brennereigewerbe" näher eingegangen ist. Es sei daher auf jenes Referat verwiesen.

Weiter folgen nun die wertvollen Arbeiten Hayduck's, welche Delbrück's aufgestellten Grundsätze ergänzten und ausbauten. Delbrück zeigt, daß durch die natürliche Bewegung — indifferente Stoffe — Mehrerträge an Alkohol, die durch die künstliche Bewegung noch erhöht werden können, zu erzielen seien. Durch die künstliche Bewegung wird die von Delbrück und Foth als Hefengift erkannte Kohlensäure zum großen Teile fortgeschafft. Hesse bringt dieses System des „Herauspumpens" der Kohlensäure in bestimmter Weise zur Geltung. Delbrück macht weiter darauf aufmerksam, daß bei der Hefebereitung, überhaupt bei jeder Gärung die „toten Punkte, d. h. solche, wo der gewünschte Gärungsorganismus nicht thätig ist, zu vermeiden sind. Ueberall, wo Hefe thätig ist, kommen andere Organismen nicht auf.

Es folgt das Jahr 1888 und die Entwickelung tritt in ein neues Stadium mit der Einführung des Hansen'schen Systems der Hefereinzucht. Lindner stellt fest, daß die Brennereihefen eine Mischung von leistungsfähigen und nicht leistungsfähigen Heferassen zeigen. Die Hefezuchtanstalt des Vereins wird ins Leben gerufen.

Wissenschaftliche Forschungen ergeben, daß die verschiedenen Heferassen verschiedene Eigenschaften besitzen und infolgedessen verschiedene Wirkungen hervorbringen. Die Hefen sind verschieden in ihrem Gehalt an bestimmten Enzymen, durch welche die Vergärung bestimmter Kohlehydrate bedingt ist. Mit diesen Forschungen sind die Namen Bau, Lintner jun., Lindner und vor allem Emil Fischer verbunden. Die neueste Errungenschaft auf diesem Gebiete ist die Vergärung von Malzdextrin ohne Hilfe von Diastase durch die Hefe Pombe und die Hefe Logos. Erstere wurde als solche von Rothenbach erkannt und letztere von van Laer kennen gelehrt.

Delbrück stellt die Gesetze der natürlichen Reinzucht auf. Sie zeigt die Bedingungen, unter denen die Rassen rein zu erhalten sind. Durch dieselbe ist man imstande, Mischhefen, bestehend beispielsweise aus untüchtigen Brauhefen und echten Brennereihefen, durch die Führung der Hefe von den untüchtigen Rassen zu befreien.

Munsche brachte hierfür den experimentellen Beweis. Neueste Versuche von Auerbach ergaben, daß auch Kahmhefen aus einem Hefengemisch durch Regulierung des Säuregehaltes und Benutzung der Widerstandskraft gegen Alkohol beseitigt werden können. Noch bevor Delbrück die Gesetze der natürlichen Reinzucht aufstellte, war das Effront'sche Flußsäureverfahren erschienen. Es handelt sich dabei um die Akklimatisierung der Hefen an bestimmte Spezifika, in diesem speziellen Falle an Flußsäure. Delbrück wirft bezüglich des Systems der natürlichen Reinzucht die Frage auf: „Wie nun, wenn die Feinde, um deren Ausschluß es sich hier

handelt, sich an diese Mittel gewöhnen, wenn sie sich akklimatisieren?"

Maercker und Cluß prüfen das Effront'sche Verfahren und finden, daß thatsächlich in demselben eine große Entdeckung vorliege. Neuere von Rothenbach unter Delbrück's Leitung ausgeführte Versuche ergaben die nämlichen Resultate. Die Flußsäure bewies sich als das vornehmste Desinfektionsmittel, die Hefe kann in der That an größere Mengen gewöhnt werden und giebt eine Gärung von einer Reinheit und einer Freiheit von Infektion, wie sie sonst noch nicht erreicht wurde. Allerdings scheint die Flußsäure bei der Vergärung von Dickmaischen doch nicht das zu leisten, als wenn mit Salzsäure, Milchsäure oder schwefliger Säure gearbeitet wird.

Nachdem der Vortragende noch einige allgemeine Betrachtungen seinen Ausführungen hatte folgen lassen, schloß er seinen mit lebhaftem Beifall aufgenommenen Vortrag mit folgenden Worten: „die 25-jährige Entwickelung, welche das Brennereigewerbe durchgemacht hat, ist ein Resultat wissenschaftlicher Leistung, getragen von einem Manne, welcher, basierend auf dem Gewerbe, basierend auf den ersten Vertretern der deutschen Landwirtschaft, uns geführt hat durch seine Persönlichkeit." Munsche (Wandsbek-Hamburg).

Babo, A. von und **Mach, E.**, Handbuch des Weinbaues und der Kellerwirtschaft. Band II. Kellerwirtschaft. 3. Aufl. Unter Mitwirkung von **K. Portele**, Adjunkt an der Versuchsstation in San Michele, neu bearbeitet von **E. Mach.** Berlin (Parey) 1896.

Die vorliegende dritte Auflage des bekannten Werkes ist nach dem Tode des rühmlichst bekannten Oenologen und Direktors der K. K. Lehranstalt Klosterneuburg, von Babo, neu bearbeitet von dem Mitarbeiter desselben, E. Mach, Direktor der Lehranstalt und Versuchsstation für Weinbau zu San Michele. Schon die Thatsache, daß von dem doch immerhin nur für einen beschränkten Kreis von Interessenten berechneten Buche im Laufe von 13 Jahren 3 Auflagen nötig wurden, ist ein Beweis für die Vorzüge desselben.

Die neue Auflage schließt sich den früheren würdig an. Eine besondere Erweiterung hat naturgemäß infolge der bahnbrechenden Forschungen Hansen's und seiner Schüler das Kapitel Gärung erfahren, das nach den modernen Anschauungen ausführlich behandelt ist. Vielleicht hätte hier etwas mehr Rücksicht auf die allerdings weniger bekannten Weinhefen genommen werden können statt der durch Hansen's Untersuchungen bekannten Hefen des Bieres, die für die Weingärung zunächst bedeutungslos sind.

Auch in den anderen Kapiteln sind die neueren Fortschritte gebührend berücksichtigt. Die neuen Filtrierapparate finden ausführliche Besprechung. Die Verminderung des Säuregehaltes des Weines beim Lagern ist eingehend behandelt; die Darstellung läßt unentschieden, ob die Säureverminderung auf die Thätigkeit der Hefe oder auf die Entwickelung von Bakterien im Wein zurückzuführen ist, obgleich

nach den Untersuchungen Wortmann's doch wohl ein Zweifel nicht mehr bestehen kann, daß wenigstens die normale Abnahme der Acidität eine Wirkung der Hefe ist. In dem Abschnitte über den Gebrauch des Schwefels sind die Forschungen über das Schicksal der schwefligen Säure im Weine, die Bildung der aldehyd-schwefligen Säure, berücksichtigt. Eine wenigstens teilweise tiefgreifende Umarbeitung hat insbesondere auch das Kapitel über die Krankheiten des Weines erfahren, wo die neueren Untersuchungen über Kahmpilze, Essigbakterien, Umschlagen des Weines u. s. f. die älteren Ansichten vielfach modifiziert haben. Auch die neuen Fortschritte unserer Kenntnisse über die chemische Zusammensetzung des Weines, sowie die neueren Methoden der Weinanalyse sind ausführlich dargestellt.

Trotz vielfacher Kürzungen ist infolgedessen der Umfang des Buches um fast 100 Seiten gewachsen.

Bei dem reichen Inhalte des Werkes steht zu hoffen, daß dasselbe auch in der neuen Auflage unter den Interessenten sich zahlreiche Freunde gewinnt. Behrens (Karlsruhe).

Greg, Percival H., The Jamaica yeasts. (Bulletin of the Botanical Department. Jamaica 1895. Sept. p. 157—160.)

Der Einfluß, welchen die Hefe auf das Aroma in Bier, Wein oder Spiritus ausübt, wurde bis auf die jüngste Zeit unterschätzt oder sogar gänzlich außer acht gelassen. — In E. Chr. Hansen's „Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie" werden einige Versuche von Nathan (Rottweil) erwähnt, welcher bei Zubereitung von Fruchtweinen ausgewählte Hefetypen in Anwendung brachte. Die Versuche ergaben das Resultat, daß der gesamte Charakter und die Qualität der dargestellten Weine in weit höherem Grade von dem Charakter der bei der Gärung die Hauptrolle spielenden Hefe abhing, als dies bei Traubenweinen der Fall ist. Es können auch weitere Beispiele angeführt werden, welche zeigen, daß das Aroma der Butter, das Reifen des Käses, das Aroma des Tabaks durch die Wirksamkeit bestimmter Mikroorganismen bedingt sind. In Hinsicht auf die Jamaica-Hefearten zeigte der Verf. in einer früheren Abhandlung (siehe Ref.) die Verschiedenheit, welche die beiden Hefetypen No. 4 und No. 18 darboten, teils mit Rücksicht auf die Bildung von Aroma, teils auch in Bezug auf die Zeit, welche, bei der gleichen Menge und der gleichen Mischung von Melasse und Dunder, verstrich, bis die Gärung zu Ende war. Dieser letzte Punkt spielt eine große Rolle in den Rumfabriken. Der Verf. verzeichnet für 8 verschiedene Hefetypen[1]) die Zeitdauer der Gärung, die Attenuation und die gebildete Alkoholmenge für eine Reihe unter den gleichen Bedingungen angestellter Versuche. Der eintretende Unterschied

1) Diese 8 Hefearten, welche alle zu den von P. Lindner benannten Schizosaccharomyces-Arten gehören, wurden sämtlich vom Verf. während eines Aufenthaltes in Alfred Jörgensen's Laboratorium im Sommer 1893 in reinen Kulturen dargestellt.

kann nur auf die Hefe zurückgeführt werden. Was die Alkoholmenge betrifft, so gaben einige 6,6 Vol.-Proz., andere 7,4—7,6 (No. 18 gab 7,2) Vol.-Proz. Einige Typen begannen die Vergärung schneller als andere, einige vermehrten sich stärker als andere, einige gaben eine festliegende, andere eine sehr lose liegende Bodensatzhefe. Mit der alleinigen Ausnahme von No. 18 waren sie alle untergärige Typen. Nur No. 18 gab ein Destillat, welches sich durch Aroma auszeichnete. Alle diese Versuche waren also Laboratoriumsversuche. Wenn man nun fragt, welche Resultate diese Hefearten in den Fabriken geben werden, beantwortet Verf. diese Frage dahin, daß direkte Versuche in den Fabriken darüber entscheiden müssen, obwohl schon aus den Laboratoriumsversuchen einiges gefolgert werden kann. Die Aufgabe des Verf.'s war es, nachzuweisen, daß es verschiedene charakteristische Jamaica-Hefetypen giebt, welche bei der Rumfabrikation eine Rolle spielen; diese wollen genau studiert werden und können, wie er behauptet, bei richtiger Kontrolle mit großem Vorteile gebraucht werden. Das Prinzip ist auch hier, daß durch planmäßige Auswahl die dem betreffenden Betriebe am besten entsprechende Hefe ausfindig zu machen, rein zu züchten und in genügender Menge zur Einführung in den Betrieb zu propagieren ist. Zur Erlangung der für die Praxis hinlänglichen Menge Hefe empfiehlt Verf. die von Hansen und Kühle oder von Alfred Jörgensen und Berg konstruierten Propagierapparate.

Just Chr. Holm (Kopenhagen).

Greg, Percival H., Selected yeasts and general considerations. (Bulletin of the Botanical Department. Jamaica 1895. Nov. p. 252—261.)

Der Verf. behandelt die Frage nach der Anwendbarkeit von Hansen's System (planmäßig ausgewählte Heferassen) bei der Rumfabrikation auf Jamaica. Zuerst wird erwähnt, wie diese Frage sich seit 1883 mit Rücksicht auf Brauereien und Brennereien entwickelt hat, und wie die Einführung des obengenannten Systems für dieselben sich durchaus als ein Gewinn erwiesen hat, sofern der entsprechende Hefetypus nach einer planmäßigen Auswahl gefunden wurde. Das Verhältnis ist bei der Rumfabrikation ein etwas anderes als bei der Bier- oder Spiritusbereitung und ist zunächst mit der bei der Weinfabrikation stattfindenden Gärung zu vergleichen: Traubenmost und Zuckerrohrsaft haben dies gemeinsam, daß sie, sich selbst überlassen, ohne Zusatz von Hefe, eine spontane Gärung geben. Daß eine ausgewählte, reingezüchtete Heferasse bei der Weingärung mit Vorteil verwendet werden kann, ist nunmehr festgestellte Thatsache. Verf. erwähnt hier Wortmann's Vortrag in Mainz bei dem 13. Weinbaukongreß (ref. Centralbl. 1895. p. 249) und hebt aus demselben hervor — was besonders auch für die Rumgärung von Interesse sein wird —, daß die reine Hefe in genügend großen Mengen zugesetzt werden und aus jungen, kräftigen Zellen bestehen müsse; wenn dieses der Fall sei, verlaufe die Gärung rascher bei erhöhter Intensität und stärker hervortretendem Aroma (Bouquet).

Der Zuckerrohrsaft enthält Hefezellen, welche wegen der in den betreffenden Ländern herrschenden hohen Temperatur in kräftiger Entwickelung begriffen sind. Die Maische besteht in der Regel aus „Skimmings", Melasse und Dunder; viele von den in diesen vorhandenen Organismen (Torula und Bakterien) sind indessen in abgeschwächtem bzw. totem Zustande zugegen; der Anwendung der reinen Hefe wird also von der Seite her keine Schwierigkeit entgegentreten. Es ist aber notwendig, unter den verschiedenen Rassen eine Wahl zu treffen: für einige Fabriken wird eine schnell vergärende Rasse passen, für andere eine langsam vergärende, sowie auch die Frage berücksichtigt werden muß, ob ein aromatischer Rum („quality rum") oder nicht („common or clean") erwünscht sei.

Verf. bespricht dann die Frage, welche Rolle der sogenannte „trash"-Behälter spiele (trash = ausgepreßtes Zuckerrohr), ob es möglich sei, ohne Anwendung dieses Behälters aus einer reinen Hefe einen aromatischen Rum herzustellen. Selbst wenn dieses möglich ist — was Versuche in der Praxis zeigen müssen —, genügt es nicht. Die Erfahrung zeigt, daß man nicht nur einen aromatischen Rum, sondern auch Rumsorten mit verschiedenem Aroma bereiten muß; Sorten, die ein Jahr begehrt sind, werden etwa das folgende Jahr nicht verlangt.

Die Anwendung des „trash"-Behälters verspätet die Gärung; es findet im Behälter eine Säurebildung statt; aber es wird nicht allein Milchsäure (der Gärung zuträglich) gebildet, sondern auch Essig- und Buttersäure in größeren Mengen. Wenn hier eine reine ausgewählte Heferasse in größerer Qualität und aus kräftigen Zellen bestehend angewendet wird, wird die Gärung in kürzerer Zeit zu Ende gebracht werden können, und man ist bei weitem besser als früher in der Lage, die Gärung zu beherrschen, so daß man es in seiner Gewalt hat, „quality"-Rum herzustellen, sowie man durch Anwendung dieser oder jener Hefe sicher ein verschiedenes Aroma erzielen wird. Auch ohne Anwendung des „trash"-Behälters wird dies zweifellos erreichbar sein.

Die Einführung reiner Gärungen in der Rumfabrikation wird nun dringende Notwendigkeit sein; dieselben werden sehr erhebliche Geldersparnis im Gefolge haben, und zur Vervollkommnung der Industrie mächtig beitragen. Just Chr. Holm (Kopenhagen).

Greg, Percival H., A contribution to the study of the production of the aroma in rum. (Botanical Department. Bulletin of the Jamaica. August 1895. p. 153—157.)

Das Rum-Aroma ist auf 5 Ursachen zurückzuführen, nämlich 1) die Pflanze, aus welcher der Rum zubereitet wird (das Zuckerrohr); 2) den Erdboden; 3) die Gärung; 4) die Destillation; 5) Lagerung auf den Fässern bei hoher Temperatur. Die Untersuchungen des Verf.'s beschäftigen sich fast ausschließlich mit dem durch die Gärung verursachten Aroma, mit besonderer Rücksicht auf den Ein-

fluß, welchen eine besondere Varietät eines bestimmten eigentümlichen Hefetypus ausübt.

Hansen's Resultate bezüglich Anwendung reiner Hefe in der Bierfabrikation gaben den Anstoß zu den Untersuchungen des Verf.'s. Er isolierte nach Hansen's Methode eine Reihe verschiedener Varietäten und Arten aus Melasse und Dunder, stellte reine Kulturen von denselben dar (die Arbeiten wurden in Alfred Jörgensen's Laboratorium zu Kopenhagen im Sommer 1893 ausgeführt), stellte damit Gärungen an (diesbezügliche Mitteilung gab er in "The Sugar Cane", November 1893, ref. im Centralblatt für Bakt. Bd. XV. 1894. p. 46) und wies besonders nach, daß der abdestillierte Alkohol von sehr verschiedener Beschaffenheit war. — Die Hefe, welche bei der Bildung des Rum-Aromas eine hauptsächliche Rolle spielte, war eine Oberhefe mit langsamer, 10—14 Tage dauernder Gärung; während dieser war zwar ein schwacher, fruchtartiger Geruch bemerkbar; aber erst bei 24—36-stündigem Stehenlassen der Flüssigkeit nach beendeter Gärung trat das Aroma deutlich hervor. Daß letzteres durch die Hefe (No. 18) bedingt war, zeigten Versuche, welche in derselben sterilen Flüssigkeit (Dunder, Melasse und Wasser), teils mit No. 18 und teils mit einer anderen Hefe (No. 4), angestellt wurden. Diese letztere, welche eine Unterhefe war, bei welcher die Gärung nur 5 Tage währte, gab keine Spur von Aroma. Verf. stellte nun Versuche an, um zu ermitteln, ob dieses Aroma nur durch die Hefe allein oder zugleich durch eine besondere Zusammensetzung der Flüssigkeit bedingt sei. Gärungen in bezw. sterilisierter raffinierter Rohrzuckerlösung, Dextroselösung, Saft vom Zuckerrohr und Melasse gaben kein Aroma (die nötige Menge von Salzen und Stickstoffnahrung war hinzugesetzt worden), während dagegen eine Mischung von Melasse und Dunder Aroma gab. Dunder — der Stoff, welcher nach der Destillation übrig bleibt — ist das Residuum des Saftes, der „Skimmings“ und der Melasse. Angestellte Versuche zeigten nun, daß der Dunder an und für sich nichts mit der Bildung des Aromas zu thun hatte, sondern daß dieselbe auf die Behandlung mit Kalk, welcher der Saft in den Fabriken untergeht, zurückzuführen war; der stark alkalische Saft, welcher indessen für die Gärung nicht günstig ist, wird durch den stark sauren Dunder fast gänzlich neutralisirt. Es wurden drei Parallelversuche angestellt mit frischem Saft vom Zuckerrohr: No. I Saft, mit Kalk behandelt, sterilisiert und vor der Gärung mit Schwefelsäure versetzt, so daß die Flüssigkeit schwach sauer war. No. II Saft sterilisiert ohne Zusatz. No. III sterilisiert und danach mit Schwefelsäure versetzt zu schwach saurer Reaktion. Bei allen 3 Versuchen wurde Hefe No. 18 angewendet. Nur No. I gab das charakteristische Aroma. Andere Jamaica-Hefearten, bei ähnlichen Versuchen angewendet, gaben kein Aroma. Verf. giebt folgende 4 Faktoren als bei der Aromabildung thätig an: Die Hefe (No. 18), den Nährboden („Skimmings“ bezw. Saft), die Behandlung der Flüssigkeit mit Alkali und schließlich die Zeit, welche nach dem Schluß der Gärung verstreichen muß, bis das Aroma auftritt. Unter diesen Faktoren ist der bestimmte Hefetypus

von sehr hervorragender Bedeutung. — Es erübrigt nun u. a. nachzuforschen, welcher Stoff bezw. welche Stoffe infolge der Einwirkung des Kalks im Safte gebildet werden, in welcher Weise dieselben durch No. 18 derart beeinflußt werden, daß ein Aroma gebildet wird, und warum die Einwirkung des Kalkes nicht durch den späteren Zusatz von Schwefelsäure bedeutungslos gemacht wird. Mit diesen Untersuchungen beschäftigt sich Verf. gegenwärtig.

Just Chr. Holm (Kopenhagen).

Greg, Precival H., Contribution to the study of the production of the aroma in rum. II. The fruity acid. (Bulletin of the Botanical Department. Jamaica 1895. Sept. p. 192—196.)

Der Verf. hat früher (in obiger Zeitschrift für März) das Vorhandensein von Fruchtsäure in Rum besprochen. Fruchtsäuren in Rum wurden früher von Herzfeld erwähnt; die von Verf. besprochene (bzw. besprochenen) (nicht in reinem Zustande dargestellte) ist wahrscheinlich dieselbe. Als Fruchtäther, chemisch gebunden an den Alkohol, übt sie den größten Einfluß auf das Aroma des Rums aus. Ihr Geruch ist sehr angenehm, erinnert etwas an Essigäther, auch etwas, wenngleich viel weniger, an das ätherische Oel der Citrone; Verf. möchte ihn als „fruchtartig“ bezeichnen.

Das Vorhandensein dieser Säure wurde vom Verf. zuerst in altem „Dunder“ entdeckt, wo sie in großer Menge zugegen war. Wenn der Dunder aber frisch ist, kann man die Fruchtsäure nicht riechen; später entsteht darin eine Essigsäuregärung und es tritt eine überschwängliche Menge des sogenannten Essigmutter darin auf; dann verliert sich der Essiggeruch, und der fruchtartige Geruch tritt hervor. — Wie kommt nun diese Säure im Dunder hervor? Dieselbe könnte durch eine besondere Bakterienart erzeugt werden, oder sie könnte als ein Salz im Dunder vorhanden gewesen und durch die Einwirkung einer gebildeten Essigsäure frei gemacht worden sein. Wenn man sich erinnert, daß der Dunder das Residuum des Zuckerrohrsaftes ist, wird es höchstwahrscheinlich, daß die Säure auch in diesem letzteren vorhanden ist. Falls, wie oben gesagt, eine Essigsäuregärung eine Rolle spielt, wird eine schwache Säuerung des Saftes mit Schwefelsäure das gleiche Resultat geben. Verf. macht indessen darauf aufmerksam, daß man auch auf die Behandlung Rücksicht nehmen muß, welcher der Saft im Sudhaus untergeht, nämlich das Erhitzen mit Kalk, und wenn eine ähnliche Behandlung vorgenommen wurde — aber sonst nicht, d. h. mit verdünnter Schwefelsäure allein — trat der fruchtartige Geruch auch hervor. Verf. schließt hieraus, daß die Fruchtsäure in irgendwelcher Verbindung in dem Safte zugegen sei, daß bei Behandlung mit Kalk eine Saponifikation stattfinde, indem mit der Säure ein Kalksalz gebildet werde, daß dieses Salz durch eine nachfolgende Essigsäuregärung im Safte oder im Dunder dekomponiert werde, so daß die Fruchtsäure frei und ein essigsaures Salz gebildet werde. Die Be-

handlung des Saftes mit Kalk ist also von wesentlicher Bedeutung, indem dieselbe bewirkt, daß die Fruchtsäure in solchem Zustande zugegen ist, daß sie als Quelle des Aromas dienen kann. Die Fruchtsäure ist in flüchtigem Zustande zugegen; wenn daher das Erhitzen mit Kalk zu heftig geschieht, wird das flüchtige Salz ausgetrieben werden können ohne dekomponiert zu werden. Es wird dies vom Verf. durch Versuche konstatiert. Verf. erwähnt ferner, wie die verschiedene Behandlung im Sudhaus sowie die in „the trash cistern" (trash = ausgepreßtes Zuckerrohr) stattfindende Gärung („Säuerung") die Aromabildung beeinflussen kann, in welcher Beziehung einige praktische Ratschläge gegeben werden.

Es wird von Interesse sein, festzustellen, ob diese Fruchtsäure im Saft aus verschiedenen Orten und aus verschiedenen Zuckerröhren sich findet. In einigen Rumproben hat Verf. einen Geruch wie nach neuem Leder gefunden und dieser ist vielleicht durch eine Säure verursacht, welche das erwähnte eigentümliche Aroma besitzt. Es muß also eine chemische Untersuchung des Saftes aus den Fabriken, welche einen solchen Rum produzieren, vorgenommen werden. Daß dieser Geruch durch ein Kunstprodukt bedingt ist, hält Verf. indessen auch für möglich, da auf Jamaica ein Baum wächst, der einen ähnlichen Geruch hat und im stande ist, sein Aroma an den Rum abzugeben, wenn das Holz in denselben eingelegt wird.

Just Chr. Holm (Kopenhagen).

Ostermann, Vergiftung durch Uromyces viciae. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1895. No. 46.)

O. beschreibt übereinstimmende Krankheitserscheinungen bei drei Kühen desselben Besitzers. Dieselbe traten vorwiegend als Paralyse der Schlingorgane auf, während im übrigen ein reger Appetit vorhanden war. Als Futter hatten die Tiere unter anderem auch grüne Wicken erhalten, die sich bei genauerer Untersuchung reichlich mit Uromyces viciae besetzt zeigten. O. meint, daß in diesem Falle von den Rostpilzen ein nervenlähmendes Gift produziert sein müßte, denn es fanden sich weder bei der geschlachteten Kuh, noch bei den anderen Kühen entzündliche Erscheinungen an den Schleimhäuten des Maules, der Rachenhöhle und in den übrigen Verdauungswegen. Eigentümlich ist freilich dieser Krankheitsverlauf, denn die übrigen Berichte über Vergiftung durch Uromyces bei unseren Haustieren heben immer die lokal entzündlichen, sich bis zur Nekrose steigernden Prozesse hervor, neben deren dann aber auch stets Lähmungen der nervösen Organe eintreten. Doch wird angegeben (vgl. Fröhner, „Lehrbuch der Toxikologie" p. 229), daß das Krankheitsbild ein verschiedenes sei, je nach dem Entwickelungszustande der Rostpilze (Uredosporen — Teleutosporen). Die Wirkung soll hiernach eine bald mehr entzündungserregende auf Haut und Schleimhäute, bald mehr eine auf Lähmung des Centralnervensystems gerichtete sein. Es muß sich hier wesentlich um die Urodosporen gehandelt haben, da O. von einem körnchenartigen, rotbraunen Belag an den Wicken

spricht, während die Teleutosporen schwarzbraun sind. Die Krankheit hörte sofort auf, nachdem rostfreier, auf einem anderen Felde gewachsener Grünklee verabreicht wurde.

Deupser (Deutsch-Lissa).

Cavara, F., Ueber die von Heterodera radicicola (Greef) Müll. verursachten Wurzelknollen an Tomaten. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1895. p. 66—68. Mit Tafel.)

Eigenartig verdickte, durch Briosi beobachtete deformierte Wurzeln einiger Tomatenpflanzen wurden vom Verf. näher auf die Ursache der Anschwellungen untersucht, wobei sich herausstellte, daß sie der Sitz tierischer Cysten waren, deren Entwickelung in denselben zu einer durchgreifenden Gewebsveränderung führt. Die Cysten sind die befruchteten Körper weiblicher Nematoden, meist ganz erfüllt von nierenförmigen Eiern, seltener geschlechtsreife Tiere umhüllend. Aus den genauer beschriebenen Merkmalen ergiebt sich, daß der Parasit der Gattung Heterodera angehört und mit H. radicicola (Greef) Müller übereinstimmt. Die Entwickelung konnte noch nicht im einzelnen verfolgt werden, da das beobachtete Material nur tote Entwickelungszustände enthielt; an Tomaten wurde diese Krankheit bislang jedoch noch nicht beobachtet.

Wehmer (Hannover).

Gotschlick, E., Die hygienische Bedeutung des Hausschwammes. [Aus dem hygienischen Institut der Universität Breslau.] (Zeitschrift f. Hygiene. XX, 3.)

Die Frage, ob der Hausschwamm gesundheitsschädliche Wirkungen auf den Menschen auszuüben vermöge, galt bisher als eine offene. G. tritt derselben näher und weist zunächst nach, daß die bisher mitgeteilten Fälle von direkter Uebertragung des Schwammes auf den Menschen nicht beweisend sind; ebenso wird eine von anderer Seite ausgesprochene Vermutung zurückgewiesen, daß der Hausschwamm mit Aktinomykose identisch sein könnte. Zahlreiche Versuche des Verf., durch Fütterung, Inhalation oder Injektion des Mycels, der Sporen oder eines Extrakts Tiere krank zu machen, waren negativ. Weitere Versuche ergaben, daß der Hausschwamm schon bei einer Temperatur von 30 bis 35 ° in kurzer Zeit abstirbt. G. schließt aus alledem, daß dem Hausschwamm sowohl jede specifisch-toxische, als auch parasitär-infektiöse Wirkung auf den menschlichen oder tierischen Organismus durchaus abzusprechen ist. Jedoch bleibt das Auftreten des Hausschwamms als ein hygienisch bedenkliches Symptom einer übermäßigen Feuchtigkeit der Wände und der Luft aufzufassen.

Canon (Berlin).

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung.

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Prof. Dr. M. W. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

II. Band. Jena, den 30. Juni 1896. **No. 12.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Original-Mittheilungen.

Einige Beobachtungen über den stammbewohnenden Kiefernblasenrost, seine Natur und Erscheinungsweise.

Von

Prof. Dr. **Jakob Eriksson**

in

Stockholm.

Durch die Untersuchungen von R. Hartig[1]), M. Cornu[2]) u. A. war schon vor einem Jahrzehnte als wahrscheinlich hervorgegangen, daß die Art von Rost, welche den Stamm gewisser Kiefernspecies bisweilen heimsucht und in der Litteratur eine lange Zeit Peridermium Pini Wallr., β truncicola Wallr. oder vielleicht öfter α corticola Rabh. benannt worden ist, in der That als eine besondere Species für sich anzusehen sei, welche sich von dem auf den

1) R. Hartig, Wichtige Krankheiten der Waldbäume. Berlin 1874. p. 68.

2) M. Cornu, Nouvel exemple de générations alternantes chez les Champignons Urédinés. (Compt. rend. Tom. CII. p. 930.)

Kiefernadeln auftretenden Per. Pini Wallr., *α* acicola Wallr. sehr gut unterscheide. Vollständig bewiesen und fast allgemein[1]) anerkannt wurde jedoch der Speciesunterschied des Stamm- und des Nadelrostes erst in neuester Zeit durch die eingehenden Untersuchungen von H. Klebahn. Es wurde uns zugleich durch die Bestrebungen dieses unermüdlichen Forschers offenbar, daß es in jeder der beiden Arten eine Mehrzahl biologisch getrennter Formen giebt.

Es konnte Klebahn[2]) schon auf Grund seiner bis zum Ende des Jahres 1890 ausgeführten Versuche innerhalb der stammbewohnenden Species — der einzigen in diesem Aufsatze zu besprechenden — drei verschiedene Formen unterscheiden, welche jede für sich als besondere Species betrachtet werden:

1) Peridermium Cornui Rostr. u. Kleb. auf Pinus silvestris, die Aecidiumgeneration des auf Cynanchum Vincetoxicum auftretenden Cronartium asclepiadeum Fr.;
2) Per. Strobi Kleb. auf Pin. Strobus und Pin. Lambertiana, wahrscheinlich auch Pin. Cembra, die Aecidiumgeneration des auf Ribes nigrum u. s. w. auftretenden Cronartium ribicolum Dietr.; und
3) Per. Pini (Willd.) Kleb., wie 1., auf Pin. silvestris, aber ohne bekannte Fortsetzungsgeneration an irgend einer anderen Wirtspflanzenart.

Im Laufe der Jahre 1891—93 hat Klebahn zahlreiche neue Versuche ausgeführt[3]), wesentlich mit dem Ziele, eine oder einige Wirtspflanzenarten zu entdecken, auf welche das hier oben an dritter Stelle erwähnte Per. Pini (Willd.) Kleb. übergehen könnte, um eine uredo- und teleutosporentragende Generation zu entwickeln. Obgleich eine beträchtliche Zahl von Pflanzenarten zu diesem Zwecke geprüft worden sind — es wurden in den Versuchen des Jahres 1893 nicht weniger als 37 in der Nähe von blasenrostkranken Kiefern vorkommende Arten mitgenommen[4]), — sind jedoch bis jetzt diese Ver-

---

1) Es hat freilich in der neueren Zeit P. Vuillemin, Recherches sur les Rouilles des Pins. (Bull. de la Soc. d. Sc. de Nancy. Sér. II. Tom. XIII. 1893. Fasc. 28. Ann. 26. p. 83) eine Rückkehr zu der alten Auffassung einer Artidentität zwischen dem Stamm- und dem Nadelroste in Vorschlag gebracht, und zwar deshalb, weil er an einer Lokalität in der Nähe von Nancy eine nadelbewohnende Rostform angetroffen hat, welche im Sporenbau u. s. w. am meisten mit den Stammrostformen übereinstimmte. Experimentelle Beweise für die Richtigkeit des Zusammenschlagens sind jedoch bis jetzt noch nicht erbracht worden.

2) H. Klebahn, Ueber die Formen und den Wirtswechsel der Blasenroste der Kiefern. (Ber. d. Deutschen Bot. Gesellsch. Bd. VIII. 1890. p. 64.)

3) H. Klebahn, Kulturversuche mit heteröcischen Uredineen. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. II. 1892. p. 259—264. — Ibid. Bd. IV. 1894. p. 10—11. — Ibid. Bd. V. 1895. p. 70—71, 73—74.)

4) Diese Arten sind die folgenden: Ribes Grossularia, Cynanchum, Vincetoxicum, Paeonia officinalis, Balsamina hortensis, Senecio Jacobaea, S. aquaticus, S. vulgaris, Melampyrum pratense, Pedicularis sp., Campanula rotundifolia, C. Trachelium, Phyteuma spicatum, Jasione montana, Sonchus arvensis, Petasites albus, Pulsatilla vulgaris, Pyrola minor, Empetrum nigrum, Rubus silvaticus, Populus tremula, Salix aurita, S. repens, Circaea lutetiana, Epilobium angustifolium, Hypericum sp., Vaccinium Myrtillus, Drosera rotundifolia, Polygala vulgaris, Sarothamnus

suche fruchtlos geblieben. Wir stehen also in Betreff unserer Kenntnisse der Natur und der Entwickelungsgeschichte dieser Art gegenwärtig auf etwa demselben Standpunkte, wie im Jahre 1890 beim Aufstellen der Species, vielleicht nur mit dem Unterschiede, daß, wenn man zu jener Zeit zu den Kennzeichen der Art die Worte „ohne bekanntes Fortsetzungsstadium an irgend einer anderen Pflanzenart" hinzufügen mußte, man jetzt an deren Stelle die Worte „kein Fortsetzungsstadium vorhanden" hinsetzen könnte[2]).

In Schweden ist stammbewohnender Blasenrost auf Pin. silvestris an vielen Orten beobachtet worden. Er wird als eine in den Wäldern von Norrbotten (dem nördlichsten Schweden) nicht seltene Krankheit auf älteren sowie jüngeren Kiefern von C. G. Holmerz und T. Oertenblad[3]) bezeichnet. Der Krebsschaden, den der Pilz hervorruft, wenn er auf älteren Stämmen auftritt, wird von der Bevölkerung mit dem Worte „Tjärnljud" bezeichnet, infolge des gerinnenden Harzes, das die Wundfläche bedeckt. In gewissen Gegenden, z. B. bei der Kirche von Arvidsjaur u. s. w., soll die Krankheit sehr häufig auftreten. Sie soll das Wachstum des Baumes hemmen und den technischen Wert des Holzes verringern, nur ausnahmsweise aber den Tod des Baumes hervorrufen.

Aus den Kiefernwäldern des mittleren und südlichen Schwedens wird der Blasenrost von A. Nilsson[4]) beschrieben. Er fand denselben in Jämtland, Westmanland, Upland, Nerike, Södermanland, Oestergötland, Westergötland und Småland, und zählt ihn zu den für die Kiefern Schwedens verderblichsten Pilzen. Bei schweren Angriffen trocknet der Wipfel des Baumes oberhalb der Angriffsstelle ab, und infolge dieser dürren Wipfel, der „Törskate", wird der Pilz der „Törskatesvampen" genannt. Eine Vergrößerung des dürren Wipfels hat man jedoch nicht beobachten können, auch nicht im Laufe von 10 Jahren, und es wird deshalb angenommen, der Pilz sterbe ab, nachdem der dürre Wipfel sich gebildet hat. Da die Törskatebildung unseren Forstleuten längst bekannt ist, kann man den Blasenrostpilz des Kiefernstammes für einen sehr alten Gast unserer Kiefernwälder halten.

Anders scheint es sich mit dem Blasenrost auf dem Stamme der Weymouthskiefer (Pin. Strobus) zu verhalten. Wann dieser zuerst in Schweden aufgetreten ist, kann man wohl nicht sagen. Es ist jedoch so viel sicher, daß er im Anfange der achtziger Jahre in

---

scoparius, Genista sp., Scleranthus sp., Arnica montana, Calluna vulgaris, Erica Tetralix, Gentiana Pneumonanthe, Quercus pedunculata und Lycopodium inundatum.

2) Aus außereuropäischen Ländern sind noch 9 Blasenrostarten an Kiefernstämmen beschrieben, und zwar aus Amerika 6, aus Indien 2 und aus Japan 1. (Vergl. F. von Thümen, Die Blasenrostpilze der Coniferen. — Mitt. a. d. forstl. Vers.-Wes. Oesterreichs. Bd. II. Wien 1880. Heft 3. p. 310 etc.; P. A. Saccardo, Sylloge Fungorum. Vol. VII. Sylloge Ustilaginearum et Uredinearum, von J. B. de Toni, Patavii 1888. p. 835. und K. von Tubeuf, Pflanzenkrankheiten. Berlin 1895. p. 428.)

3) C. G. Holmerz u. T. Oertenblad, Om Norrbottens skogar. Stockholm 1886. (Bih. till Domänstyrelsens underdåniga berättelse rörande skogs väsendet år 1885. p. 29.)

4) A. Nilsson, Forstligt botaniska undersökningar i sydöstra Nerike 1892. (Tidskr. f. Skogshush. 1893. p. 65.)

Upland und im Frühjahre 1887 in der Nähe von Stockholm beobachtet worden ist[1]). Seit jener Zeit hat man die Krankheit an mehreren Orten des Landes immer weiter verbreitet gefunden. Besonders in den 2 letzten Jahren sind die Klagen hierüber allgemein geworden, und man hat sogar gefürchtet, die Krankheit der Weymouthskiefer könne sich auf die gewöhnliche Kiefer verbreiten. Diese Klagen forderten zum Anstellen einiger Untersuchungen und Versuche über die Krankheit, wie sie bei uns auftritt, auf.

Die erste Frage war die, ob der Stammrost unserer Weymouthskiefern mit dem in Deutschland, Frankreich u. s. w. beobachteten identisch sei. Für die Entscheidung dieser Frage wurden im Frühjahre 1894 einige Infektionsversuche angeordnet, wobei das Material von hiesigen rostigen Weymouthskiefern geholt wurde. Nachdem das Sporenmaterial zuerst durch Abkühlung auf schmelzendem Eise zur Keimung gereizt worden war[2]), wurde dasselbe am 23. Mai teils auf ein eine Woche vorher aus dem Walde rein eingepflanztes Exemplar von Cynanchum Vincetoxicum, an 2 Schößlingen auf 23 Infektionsstellen, teils auf ein ebenfalls reines Exemplar von Ribes nigrum, das mehrere Wochen vorher eingepflanzt worden war, an 2 Schößlingen auf 18 Infektionsstellen übertragen. Das Resultat war im letzteren Falle nach 19 Tagen Rostflecken von Cronartium ribicolum an sämtlichen 18 Infektionsstellen.

Die infizierten Schößlinge von Cynanchum standen aber gleichzeitig, ja noch viel länger, vollständig rein, ohne die geringste Spur von Rostflecken zu zeigen. Zuletzt trat jedoch — es wurde erst nach 51 Tagen beobachtet — auf einem infizierten Blatte ein Fleckchen auf. Wie man dies zu erklären hat, ist wohl kaum möglich, sicher anzugeben. Es läßt sich einerseits denken, daß dieser Ausschlag eine Folge der ausgeführten Infektion gewesen sei, und es wäre damit bewiesen, daß der Speciesunterschied zwischen Per. Strobi und Per. Cornui in der That nicht so scharf ist, wie man annimmt. Andererseits kann man sich aber die Möglichkeit denken, daß das Cynanchum, als es sich aus einer Lokalität, wo das Cronartium asclepiadeum mehrere vorhergehende Jahre beobachtet worden war, verschob, schon beim Einpflanzen den Krankheitsstoff in sich getragen habe, aus dem der Rostflecken dann später entstanden ist.

Für die größere Wahrscheinlichkeit der ersten Annahme sei angeführt, teils daß der Rostflecken gerade auf einer infizierten Stelle entstand, teils daß sämtliche nicht infizierte Blätter derselben Versuchsnummer, ebenso wie sämtliche Blätter einer anderen, gleichzeitig eingepflanzten und auf dieselbe Weise behandelten, nur nicht infizierten Vergleichspflanze sich den ganzen Sommer hindurch von Rost vollständig rein hielten. Dafür sprechen endlich auch die auf eine weniger scharfe Fixierung des Blasenrostes der gemeinen Kiefer

1) J. Eriksson, Om några sjukdomar å odlade växter. (Kgl. Landtbr. Akad. Handl. o. Tidskr. 1890. p. 224.) — In Dänemark wurde diese Blasenrostform zuerst im Juni 1877 von E. Rostrup (Fortsatte Undersögelser over Snyltesvampes Angreb paa Skovtraeerne. — Tidskr. f. Skovbrug. Bd. VI. 1883. p. 207) beobachtet.

2) Vgl. J. Eriksson, Ueber die Beförderung der Pilzsporenkeimung durch Kälte. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. II. Abt. 1895. p. 557.)

hinweisenden Resultate, die im Jahre 1895 in einigen mit dieser Form angestellten Infektionsversuchen gewonnen wurden.

Das Material dieser letztgenannten Versuche stammte in einer ersten Versuchsserie von einem mehr als daumendicken Zweige der Pinus silvestris aus einem Walde bei Svalnäs, nördlich von Stockholm. Dieses Material zeigte nach Abkühlung auf Eis allgemeine Keimfähigkeit nach 16 Stunden, stimmte also in seiner Reaktion gegen Kälte mit dem Blasenroste der Weymouthskiefer überein. Die Infektion geschah am 2. Juni teils auf Ribes nigrum an 33 Infektionsstellen, teils auf Cynanchum Vincetoxicum an 47 Infektionsstellen. Die Versuchspflanzen waren mehrere Wochen vorher in ihre Töpfe verpflanzt worden. Das Resultat war auf Ribes nach 11 Tagen 1 Pustelnflecken, nach 23 Tagen 5 und nach 39—49 Tagen 6 Pustelnflecken, während Cynanchum noch immer rein da stand, ebenso wie 2 nicht infizierte, sonst gleich behandelte Vergleichspflanzen, eine Pflanze von jeder Species.

Dieses Resultat war sehr überraschend, und zwar viel mehr als der einzige positive Ausschlag des vorigen Jahres auf Cynanchum nach der Infektion mit Blasenrostsporen von der Weymouthskiefer. Infolge ausländischen Erfahrungen könnte man erwarten, daß die bei uns auf dem Stamme der gemeinen Kiefer auftretende Blasenrostform entweder zu Per. Cornui, das sich auf Cynanchum weiter entwickelt, gehöre, oder auch zu Per. Pini (Willd.) Kleb., für welche Species noch kein Wirtswechsel bekannt ist. Keine dieser Voraussetzungen wurde jedoch durch die oben genannten Versuchsresultate bestätigt, sondern es zeigten diese vielmehr auf eine Identität mit Per. Strobi hin.

Es ist freilich nicht jeder Gedanke ausgeschlossen, daß eine absichtliche Infektion zum Teile von einigen mit Per. Strobi infizierten kleineren Weymouthskiefern habe stammen können, welche am 20. Juni in demselben Zimmer aufgestellt wurden, wo sich die obige Ribespflanze befand. Unter den zuletzt an dieser vorhandenen 6 Rostflecken wäre wohl der zuletzt hervortretende, welcher sich so spät, nach dem 24. desselben Monats zeigte, daß man es als möglich annehmen könnte, es habe z. B. eine in das Versuchszimmer gelegentlich hereingekommene Fliege den Ansteckungsstoff von Per. Strobi überführen können, möglicherweise als anderswoher entstanden zu erklären. Für die früher hervorgebrochenen 5 Rostflecken hat man jedoch ganz sicher keinen solchen Ausweg, da vor dem 20. kein Material von Per. Strobi im Hause zugänglich war.

Durch die so erhaltenen Resultate überrascht, machte ich Ende Juni eine neue Infektion mit der Form der Pin. silvestris. In diesem Falle entstammte das Material einer älteren Kiefer, die in dem alten Waldgebiete bei Bergielund wuchs. Diese Kiefer trug an vielen ihrer kleinen Aeste sehr häufig Rostblasen. Der Hauptstamm und die dickeren Zweige dagegen waren rein. Das Material wurde am 19. Juni eingesammelt und zur Keimung eingelegt, ein Teil auf Wasser von gewöhnlicher Zimmertemperatur ($+20^0$ bis $+25^0$ C), ein anderer Teil auf Wasser in einem Gefrierschrank, wo die Temperatur allmählich bis zwischen -8^0 und -10^0 C (während 2 Stunden) heruntergebracht wurde. Eigentümlicherweise keimte in

diesem Falle das nicht abgekühlte Sporenmaterial etwas schneller als das abgekühlte. Jenes hatte nach 3 Tagen allgemeine Keimfähigkeit erreicht, während das bei diesem erst nach 5 Tagen eintraf. Die Infektion geschah am 25. Juni nur auf Ribes nigrum an 24 Infektionsstellen, und zwar mit dem Erfolge, daß ein deutlicher Flecken von Cronartium ribicolum nach 15 Tagen an einer Infektionsstelle hervorgetreten war. Außer diesem kamen jedoch keine mehr zum Vorschein.

Aus den jetzt beschriebenen Versuchen wird man wohl schließen können, daß man sich mit den im Auslande gewonnenen Untersuchungsresultaten von der Natur der Kiefernblasenrostpilze nicht begnügen darf, wenn es unsere Verhältnisse gilt, sondern daß eigene Versuche bei uns sehr von Nöten sind. Man muß sich aber auch durch dieselben aufgefordert fühlen, zu fragen, ob man nicht vielleicht zu weit gegangen ist, wenn man die verschiedenen Formen als thatsächlich getrennte morphologische Species aufgestellt hat, und ob dieselben nicht vielmehr auf dem jetzigen Standpunkte dieser Forschung als specialisierte Formen einer gemeinsamen Species zu betrachten seien.

Eine andere wichtige Frage ist die, ob bei den beiden Blasenrostarten, Per. Cornui der gemeinen Kiefer und Per. Strobi der Weymouthskiefer, wo ein Wirtswechsel erwiesen ist, dieser Wirtswechsel für den dauernden Bestand der Arten notwendig sei, oder ob dieselben bisweilen, wie Per. Pini (Willd.) Kleb. stets, durch sich selbst fortleben und sich verbreiten können, und im Zusammenhang damit, ob die uredo- und teleutosporenerzeugenden Generationen jener beiden Arten, Cronartium asclepiadeum und C. ribicolum, auch ihrerseits fortleben und sich verbreiten können, ohne auf die genannten Kiefernarten überzusiedeln.

Beachten wir zuerst Per. Strobi und das damit zusammengehörende Cr. ribicolum, so ist es wohl einerseits wahr, daß das Vorhandensein des einen in vielen Fällen mit dem des anderen an derselben Lokalität zusammen treffen kann. Dies war der Fall an den beiden Stellen in der Nähe von Stockholm, wo ich zuerst im Frühjahr 1877 den Weymouthskiefernrost beobachtete, sowie auch an mehreren anderen nachher entdeckten Lokalitäten. Es ist jedoch andererseits ebenso wahr, daß Fälle vorkommen, wo das eine Entwickelungsstadium existiert, das andere aber nicht, wenigstens wenn es das Vorhandensein der uredo- und teleutosporentragenden Generation gilt. Es trat also, wie ich seiner Zeit beobachtete, in den sechziger und siebziger Jahren die fragliche Rostform auf Ribes nigrum das eine Jahr nach dem anderen südlich von Malmö in einem Garten auf, wo in der ganzen Gegend keine Weymouthskiefer vorkam und wo die nächste Entfernung der gemeinen Kiefer auf wenigstens $^1/_8$ Meile zu schätzen war[1]. Von ähnlichen Fällen spricht A. Nilsson[2], indem er sagt, daß Cronartium ribicolum im Jahre 1892 an mehreren Stellen in Westmanland auf Ribes nigrum häufig vorgekommen sei, obgleich die Weymouths-

---

1) J. Eriksson, Rostsjukdom å Weymouthstallen. (Sv. Trädg. För. Tidskr. 1895. p. 88.)

2) A. Nilsson, Forstligt botaniska Undersökningar etc. p. 61.

kiefer in der nächsten Umgebung gar nicht, ja an einem Orte erst in einer Entfernung von $^3/_4$ Meile vorkam [1]).

Schon diese wenigen, doch sicher konstatierten Fälle dürften hinreichen, um zu zeigen, daß das Cr. ribicolum ohne Vorhandensein von Pin. Strobus auftreten und fortleben kann. Der Blasenrost dieser Kiefer wird demnach als ein nur fakultatives Entwickelungsstadium des Pilzes anzusehen sein, d. h. als ein Stadium, das zur Entwickelung kommt, wenn die dafür erforderlichen Bedingungen vorhanden sind, im entgegengesetzten Falle aber auch entbehrlich ist, ebenso wie wir das Aecidiumstadium (Aecidium Berberidis) des Getreide-Schwarzrostpilzes (Puccinia graminis) als ein nur fakultatives betrachten müssen [2]).

Es ist jedoch hiermit nicht genug! Ich will daran erinnern, daß die Weymouthskiefer, obgleich sie bei uns sehr lange, wohl 100 Jahre lang kultiviert worden ist, und obgleich Ribes nigrum seit sehr langer Zeit, wenigstens seit 25 Jahren, bei uns filzrostig gewesen ist [3]), die genannte Kiefernart dessen ungeachtet bis in das letzte Jahrzehnt gesund dagestanden hat, eine wahre Zierde der feineren Parkanlagen. Dieser auffallende Umstand läßt sich kaum als ein glücklicher Zufall erklären, der es so gefügt hätte, daß die Weymouthskiefer in einer älteren Zeit nicht in der Nähe von Ribes nigrum kultiviert worden wäre. Man darf es vielmehr wohl für ganz sicher halten, daß da, wo die genannte Kiefernart angebaut worden ist, in den allermeisten Fällen auch das fast unentbehrliche Ribes nigrum vorhanden gewesen ist.

Der in neuester Zeit so plötzlich aufgetretene und so schnell verbreitete Blasenrost der schwedischen Weymouthskiefern scheint vielmehr die Frage hervorrufen zu können, ob diese Krankheit vielleicht nicht — wie man als ganz selbstverständlich angenommen hat — infolge einer näheren oder ferneren Nachbarschaft von filzrostigem Ribes nigrum entstanden sei, sondern eher aus einem in der letzten Zeit in unser Land hereingekommenen, an sich kranken

1) Von ähnlichen Fällen aus Dänemark spricht E. Rostrup, Undersögelser over Snyttesvampes Angreb på Skovtraeer i 1883—1888. (Tidskr. f. Skovbrug. Bd. XII. p. 191.)

2) J. Eriksson, Neue Untersuchungen über die Spezialisierung, Verbreitung und Herkunft des Schwarzrostes. (Pringsheim's Jahrb. f. wissensch. Bot. Bd. XXIX. 1896.) [Noch nicht erschienen.]

3) Ueber das Alter dieser Rostart in Europa sind verschiedene Ansichten ausgesprochen worden. P. Magnus, Mykolologische Bemerkungen (Hedwigia. Bd. XII. p. 52) meinte im Jahre 1873, daß sie in der letzten Zeit von Amerika nach Norddeutschland mit Ribes aureum eingewandert und von dieser Nährpflanzenart auf Ribes nigrum übergesiedelt sei. Da indessen dagegen eingewandt werden konnte, teils daß H. A. Dietrich, Blicke in die Kryptogamenwelt der Ostseeprovinzen (Arch. f. d. Naturk. Liv-, Est- und Kurlands. Ser. 2. Bd. I. Dorpat 1856. p. 287), schon 17 Jahre früher den Pilz als nicht selten in den Gärten der Ostseeprovinzen auf Ribes nigrum, R. rubrum und R. aureum beschrieben hatte, teils daß E. Rostrup, nach A. de Bary, Notiz über Cronartium ribicola (Bot. Zeitung. Jahrg. 32. 1874. p. 79) den Pilz in Dänemark auf Ribes nigrum wenigstens so früh wie im Jahre 1871 wahrgenommen hatte, so hat Magnus später (Ueber die Einwanderung zweier Rostpilze [Verh. d. Bot. Ver. d. Prov. Brandenburg. Jahrg. 16. 1874. p. 58]) seine Meinung über den Ursprung des Pilzes etwas modifiziert, freilich nicht so weit, daß er den Pilz für Deutschland einheimisch — wie de Bary anzunehmen scheint — halten will, aber doch so, daß er es unentschieden läßt, aus welchem Lande derselbe gekommen ist.

Stamme oder von Samen oder Pflanzen dieser Kiefernart abzuleiten sein müsse. Vielleicht läßt sich ja auch denken, daß der Pilz, wie er auf dem Kiefernstamme auftritt, die Fähigkeit besitzt, ohne vermittelndes Uredo- und Teleutosporenstadium auf Ribes, direkt auf die gesunden Schößlinge und Aeste der Kiefer überzugehen. Es wäre in solchem Falle auch das Cronartiumstadium des Pilzes als fakultativ zu betrachten.

Es können für die genannten Möglichkeiten außer den schon angedeuteten in der That noch mehr Gründe vorgeführt werden. Ein solcher Grund ist der, daß die Krankheit an mehreren Stellen im Auslande, von denen wir die Samen zum Erziehen dieser Kieferart in unseren Baumschulen zu holen pflegen, seit mehreren Jahrzehnten sehr verbreitet gewesen ist und große Verwüstung angerichtet hat. Ein anderer Grund ist der, daß man Lokalitäten kennt, wo ältere Bäume dieser Kiefernart stets rein dagestanden haben, bis kleinere kranke Pflanzen in ihre Nähe in denselben Garten hereingekommen sind. Ein solcher Fall mag hier besondere Erwähnung finden. In dem Handelsgarten bei Stockholm, wo diese Rostform im Frühjahre 1887 an kleinen 8—10-jährigen Weymouthskiefern zuerst beobachtet wurde, wuchsen in einer Entfernung von nur 20—30 m große alte Bäume, wohl 75 Jahre alt, von derselben Kiefernart, die alle noch völlig rein waren. Ihre Reinheit wurde damals so erklärt, daß diese Bäume über das für Ansteckung empfängliche Alter hinaus gewesen seien. Diese Erklärung hat sich aber als unrichtig erwiesen. Im Frühre 1895, acht Jahre später, wurden dieselben Bäume wieder untersucht und da zeigten sie sich leider an vielen Aesten des großen Wipfels sehr stark rostbefallen.

Wenden wir uns nun zu Per. Cornui der gemeinen Kiefer und dessen Fortsetzungsstadium, Cr. asclepiadeum auf Cynanchum Vincetoxicum, so können auch hier Beobachtungen zur Stütze der Annahme eines nur fakultativen Heteröcismus angeführt werden. Es ist an einer Lokalität am Experimentalfältet Cr. asclepiadeum auf Cynanchum am Saume eines Kiefernwaldes seit dem Jahre 1881 vorhanden, ohne daß man bisher an den nebenanstehenden Kiefern Blasenrost hat beobachten können. Besonders wurden im Frühjahre 1895, Anfang Juni, alle die Kiefern, ältere wie jüngere, welche an dieser Lokalität oder in deren unmittelbaren Nachbarschaft wuchsen, sehr genau untersucht, aber umsonst. Auch die Kiefern, deren Zweige die Cynanchumlokalität überragten, trugen nicht die geringste Spur von Blasenrost, sondern waren alle ganz gesund. Dieses zeigt, daß Cr. asclepiadeum von einem Jahre bis zum anderen fortleben kann, ohne durch Per. Cornui abgelöst zu werden, zugleich aber, daß die Verbreitung jener Pilzform auf die ablösende Wirtspflanzenart, obgleich diese sich in der Nachbarschaft befindet, weder so leicht zu stande kommt, noch für das Fortleben des Pilzes von einer so großen Bedeutung ist, wie man bis jetzt auf Grund wissenschaftlicher Auseinandersetzung angenommen hat[1]).

Richten wir endlich unsere Aufmerksamkeit auf das auch an der

---

1) Vergl. J. Eriksson, Neue Untersuchungen etc., wo analoge Fälle mit anderen Rostpilzarten referiert werden.

gemeinen Kiefer auftretende Per. Pini (Willd.) Kleb., so findet sich für die Aufklärung der Herkunft und Verbreitung desselben, da dasselbe, soweit bekannt ist, kein Fortsetzungsstadium an einer anderen Pflanzenart besitzt, kein anderer Ausweg als die Annahme einer direkten Ansteckung von einem Aste zum anderen oder von einem Baume zum anderen, von einer Verbreitung durch kranke Samen nicht zu reden.

Man darf wohl annehmen, daß es diese letztgenannte oder eine damit analoge, nicht wirtswechselnde[1]) Species ist, welche die vorher besprochenen „Tjärnljud-“ oder „Törskate“-Bildungen in den schwedischen Wäldern hervorruft, da Cynanchum eine allzu beschränkte Verbreitung im Lande hat — dasselbe kommt nur in den östlichen Küstenprovinzen, von Schonen bis nach Upland, sowie auf den Inseln Oeland und Gottland vor — als daß man die Ursache derselben zum wesentlichen Teile in Per. Cornui suchen könnte.

Was jetzt über das, wie es scheint, fakultative Wesen des Heteröcismus der beiden, bisweilen wirtswechselnden Blasenrostarten Per. Strobi und Per. Cornui ausgeführt worden ist, sowie auch das häufige Vorkommen der wahrscheinlich nicht wirtswechselnden Species Per. Pini (Willd.) Kleb. dürfte eine eingehende Betrachtung der folgenden wichtigen Frage wohl rechtfertigen. Wenn die betreffenden Blasenrostarten sich in der That von einer Kiefer bis zu der anderen ohne irgend welche vermittelnde Wirtspflanze anderer Art verbreiten können, auf welche Weise kommt dann diese Verbreitung zu stande?

In Bezug auf die Herkunft der Krankheit, wenn sie sich das erste Mal an einer vorher gesunden Pflanze zeigt, kann man sich zwei Möglichkeiten denken. Eine derselben ist die, daß der erste Krankheitsausbruch die Folge einer vorausgehenden Infektion von außen her wäre, entweder durch eine vorher rostige Kiefer oder durch diejenige Pflanze anderer Art, auf der der Pilz seine späteren Entwickelungsstadien durchgemacht hat. Eine andere Möglichkeit aber ist die, daß die ersten Rostpusteln einer Pflanze aus einem in dieser selbst vorhandenen, vielleicht seit Jahren schlummernden Krankheitstoff herzuleiten wären.

In der einschlägigen Litteratur sucht man in diesem Falle so gut wie vergebens nach einer Aufklärung. R. Hartig[2]), der dieser Krankheit eine eingehende und vieljährige Aufmerksamkeit gewidmet hat, erklärt noch im Jahre 1889, daß es noch zu erforschen bleibt, auf welchem Wege die Infektion erfolge, ob immer eine Verwundung des Rindengewebes durch Insekt, Specht, Hagelschlag oder dergl. vorausgegangen sein müsse. Man kann es für sicher halten, daß Hartig, wenn er hier von Infektion spricht, ausschließlich an eine solche von der teleutosporentragenden Wirtspflanze her gedacht hat, da ein

1) Es hat freilich A. Nilsson in einer späteren Arbeit (A. Nilsson u. K. G. G. Nordling, Skogsundersökningar i Norrland och Dalarne sommaren 1894. [Bih. t. Dom. Styrs underd. Ber. rör. Skogsväsendet år 1894. p. 13]) die Vermutung ausgesprochen, daß diejenige Form des Pilzes, welche zahlreich auf Kiefernhaiden vorkommt, mit Chrysomyxa Empetri auf Empetrum nigrum zusammengehöre. Für eine solche Annahme, die auf geselliges Auftreten der Formen basiert ist, spricht indessen das negative Ergebnis nicht, welches Klebahn in seinen Versuchen, eine in Deutschland auf Pin. silvestris auftretende Blasenrostform auf Empetrum nigrum überzuführen, im Jahre 1893 erhielt.

2) R. Hartig, Lehrbuch der Baumkrankheiten. 2. Aufl. Berlin 1889. p. 146.

direkter Uebergang der Krankheit von einer Kiefer zu der anderen nicht früher einmal in Vorschlag gebracht worden ist, und da diejenigen Querschnitte älterer Kiefernstämme, mit denen Hartig seine Aufsätze über dieses Thema an mehreren Stellen illustriert hat, wenn man noch dazu die Figurenerklärungen derselben betrachtet, offenbar zeigen, daß er voraussetzt, die Infektion finde an recht alten Stammgliedern statt. Zu derselben Auffassung scheint auch Nilsson[1]) infolge seiner Untersuchungen über die Krankheit, wie sie in Schweden auf der gemeinen Kiefer auftritt, gekommen zu sein, da er sagt, daß der Angriff an 10—30-jährigen Kiefern tief unten, kaum 1 Meter über dem Boden, anfangen könne und der Pilz gewöhnlich auch hier zuerst an der einen Seite des Stammes zum Vorscheine komme, was darauf hindeute, daß ein junges Krankheitsstadium vorliege.

Nur einmal wird in der Litteratur eine Infektion von Kiefernpflanzen besprochen. Diese führte Klebahn[2]) an zwei kleinen Weymouthskiefern, welche er im Sommer des Jahres 1888 in Töpfe verpflanzt hatte, in dem Verpflanzungsjahre und in dem Jahrr 1889 aus. Die Infektion geschah in jenen Sommern (Tage nicht angegeben) mit Cr. ribicolum auf jungen Zweigen (Alter der Glieder nicht angegeben) und auf den unteren Teilen der Nadeln und lieferte das Resultat, daß an der einen der infizierten Pflanzen sich im Frühjahre 1890 eine Anschwellung an einem der Quirle des Stammes und gegen Ende Juni reichliche Spermogonienentwickelung zeigte.

Um, wenn möglich, für eine eigene Auffassung in dieser Frage, wie die Infektion hier zu stande komme, sei es durch die Teleutosporen der ablösenden Wirtspflanze oder durch die Aecidiensporen der Kiefer selbst, Gründe zu finden, wurden im Frühjahre 1895 einige blasenrostkranke Weymouthskiefern verschiedenen Alters am Experimentalfältet genauer untersucht. Dabei richtete sich die Aufmerksamkeit besonders auf das Alter der rostkranken Glieder und erwies sich die fragliche Kiefernspecies wegen ihrer besonders hübschen und regelmäßigen Zweigbildung für diese Untersuchung in hohem Grade geeignet.

Die Resultate zweier solcher im Detail durchgeführten Untersuchungen sind auf der nebenstehenden Tabelle zusammengestellt:

Man findet hieraus, daß die aufgetretenen Rostblasen niemals an solchen Gliedern, die jünger als 4 Jahre alt waren, vorkommen, und wenn man die Detailnotizen, die der Zusammenstellung der obigen Tabelle zu Grunde liegen, zu Rate zieht, so erfährt man, daß

7	kranke	Glieder	4	Jahre	alt waren
18	„	„	5	„	
9	„	„	6	„	
6	„	„	7	„	
3	„	„	8	„	
2	„	„	9	„	
2	„	„	10	„	
4	„	„	11	„	
1	„	„	26	„	

1) A. Nilsson, Forstligt botaniska undersökningar etc. p. 62—63.
2) H. Klebahn, Ueber die Formen etc. p. 63.

Die Lokalisierung des Blasenrostes (Peridermium Strobi) an der Weymouthskiefer (Pinus Strobus) am Experimentalfältet im Frühjahre 1895.

Beobachtungsnummern	Hauptstammglied			Zahl der Seitenzweige			Alter der krank. Glieder	
	Alter Jahre	Länge cm	Gesundheitszustand	gesunde	kranke	tote	des Hauptstammes	der Seitensprößlinge
I. Ganzer Baum, 26 Jahre alt .	1	.	tot					
	2	.	,,					
	3	.	gesund	0	2	3	.	4
	4	7.8	krank	0	2	4	4	4
	5	35.5	,,	4	7	0	5	4—5
	6	41	,,	8	2	3	6	5—6
	7	38	gesund	5	0	3		
	8	34	krank	0	8	1	8	5—8
	9	29	,,	2	6	1	9	6—10
	10	40	,,	5	2	1	10	4—11
	11	27	,,	3	4	1	11	6—11
	12	34	gesund	5	0	3		
	13	21	,,	3	0	2		
	14	13	,,	3	0	7		
	15	25	,,	7	0	3		
	16	30	,,	3	0	1		
	17	8	,,	3	0	3		
	18	14	,,	0	0	0		
	19	15	,,	0	0	0		
	20	10	,,	0	0	0		
	21	21	,,	0	0	0		
	22	16	,,	0	0	0		
	23	17	,,	0	0	0		
	24	40	,,	0	0	0		
	25	8	,,	0	0	0		
	26	23	krank	0	0	0	26	
II. Zweig, 13 Jahre alt, eines älteren Baumes	1	8.5	gesund	0	0	0		
	2	19	,,	1	0	0		
	3	23.5	,,	6	0	0		
	4	25	,,	2	0	1		
	5	16.5	,,	3	0	3		
	6	16	,,	7	1	0	.	6
	7	32	,,	8	3	0	.	5—7
	8	35	,,	10	1	0	.	5
	9	37	,,	7	1	2	.	5—6
	10	42	,,	6	0	0		
	11	35	krank	5	1	0	11	
	12	27	gesund	2	0	1		
	13	25	,,					

Dieselben Resultate gab auch die Untersuchung einiger anderen kranken Weymouthskiefern des Platzes. An einer Stelle wuchsen 6 ältere Bäume. Von diesen waren 3 bei der Untersuchung am 2. Juni 1895 mehr oder weniger schwer krank. Der größte und zugleich am schwersten befallene Baum trug Rostblasen teils tief unten am Hauptstamme, 1 Fuß über dem Boden, teils an einigen der untersten Zweige, teils endlich an einer Mehrzahl von Zweigen höher am Baume. Niemals waren jedoch Anschwellungen und Blasen an den allerjüngsten Gliedern zu entdecken. In den meisten Fällen

konnte leider an diesem Baume nicht das Alter jedes kranken Gliedes genau bestimmt werden, weil eine Menge von Zweigspitzen abgestutzt worden waren. In den Fällen, wo eine Altersbestimmung möglich war, zeigten sich indessen die kranken Glieder 5—6 Jahre alt. Eine andere recht kleine Pflanze an derselben Stelle war dagegen unverstümmelt und es konnte hier das Alter der kranken Glieder genau bestimmt werden, bei 2 Gliedern auf 4 Jahre und bei 2 anderen Gliedern auf 5—6 Jahre.

An einer zweiten Stelle wuchsen etwa 10 Pflanzen derselben Kiefer, 8—10 Jahre alt, von welchen ungefähr die Hälfte an 5- bis 6-jährigen Gliedern, nicht an jüngeren, rostig waren. An einer dritten Lokalität standen 5 recht große Bäume, etwa 25 Jahre alt, sämtlich rostig, doch, so weit beobachtet wurde, niemals auf Gliedern, die unter 4 Jahre alt waren [1]).

Wie soll man den auffallenden Umstand erklären, daß keine Rostpusteln an denjenigen Gliedern auftreten, die jünger als 4 Jahre sind? Kaum so, daß ein Glied während der allerersten Jahre seines Daseins für den betreffenden Pilz unempfänglich wäre. Eine solche Voraussetzung steht nämlich mit allen früheren Erfahrungen auf diesem Gebiete im Widerspruche, da die jüngsten und zartesten Organe einer Pflanze sonst immer die geeignetste Unterlage für herantretende Ansteckungsstoffe bilden. Eine viel wahrscheinlichere Erklärung ist die, daß der Pilz, nachdem er auf den Schößling übergesiedelt ist, eine Zeit von 4 Jahren braucht, ehe er die Ausbildung und Reife erreicht, daß er mit fertigen, geborstenen Pusteln an der Stammoberfläche hervortritt oder mit anderen Worten, daß hier eine Inkubationsdauer von 4 Jahren von Nöten ist. Betrachtet man eine kranke Kiefer im Frühjahre zu der Zeit, wo die Krankheit in ihrer höchsten Blüte steht und der Ansteckungstoff in größter Häufigkeit vorhanden ist, und fragt man sich dabei, an welchen Teilen des Baumes eine Infektion vorzugsweise zu vermuten sein mag, so muß man in erster Linie bei den zarten, hellgrünen, neuen Schößlingen, den „Kiefernschößlingen", stehen bleiben.

Für die Annahme einer mehrjährigen Inkubationsdauer sprechen auch gewisse Beobachtungen über das erste Hervortreten der Krankheit auf ganz jungen Kiefernpflanzen. Es ist im Vorhergehenden als eine Möglichkeit zur Erklärung des ersten Hervortretens der Krankheit an einer Kiefernpflanze vorausgesetzt worden, daß die Krankheit auch aus einem in sich kranken Saatkorn herstammen könne. Wir wollen nachsehen, ob sich zur Stütze einer solchen Annahme Beobachtungen vorbringen lassen.

Am Experimentalfältet befanden sich im Frühjahre 1895 zwei Beete mit 7—8jährigen Weymouthskiefern. Diese Beete waren etwa 20 m von einander entfernt. Das eine Beet enthielt wohl 100 Pflanzen, das andere nur etwa 10. Auf jenem waren fast alle Pflanzen sehr stark rostbefallen. Auf diesem aber war zu derselben Zeit keine Spur

1) Es sieht aus, als ginge die Entwickelung des Pilzes in südlicheren Ländern etwas schneller. Es schätzt wenigstens H. Klebahn (Weitere Beobachtungen über die Blasenroste der Kiefern. — Ber. der Deutschen Botan. Gesellschaft. Bd. VI. 1888. p. XLVII) das Alter, welches ein Glied erreichen muß, ehe Rostblasen hervorbrechen, auf 3 Jahre.

von Blasenrost zu entdecken[1]). Nun liegt hier die bemerkenswerte Thatsache vor, daß die Pflanzen der beiden Beete aus verschiedenen Samen stammten. Man kann unter solchen Umständen kaum umhin, die Ursache des verschiedenen Krankheitszustandes in der verschiedenen Herkunft zu suchen.

Man beachte indessen auch, auf welche Weise die Krankheit an den Pflanzen des kranken Beetes auftrat. Die Rostblasen zeigten sich stets an dem oder den untersten Gliedern, welche jetzt etwa 6 Jahre alt und infolge der Krankheit verunstaltet waren, in keinem einzigen Falle auf jüngeren Gliedern. Auch hierin liegt ja die Andeutung einer mehrjährigen Inkubationsdauer, ja es sieht fast aus, als ob diese Dauer hier, an Keimpflanzen, eine noch etwas längere (5—6 Jahre)[2]) wäre, als beim Hervortreten der Krankheit infolge äußerer Infektion auf den Zweigen etwas älterer Kiefern. Es sei übrigens hier hervorgehoben, daß man seit mehreren Jahren beim Erziehen von Weymouthskiefern in den Baumschulen bei Stockholm beobachtet hat, daß sich auf den Pflanzen keine Krankheit zeigt, ehe dieselben 6—7 Jahre alt sind.

Es mag hier endlich auch eine Beobachtung Erwähnung finden, welche unzweifelhaft auf die Herkunft von Blasenrost, wahrscheinlich Per. Pini (Willd.) Kleb., der gemeinen Kiefer aus krankem Saatkorn, ebenfalls nach mehrjähriger Inkubationsdauer, deutet. Am Fuße eines der neu angelegten Felsenberge von Bergielund bei Stockholm finden sich etwa 30 Pflanzen dieser Kiefernart, die aus jämtländischen Samen im Jahre 1888 erzogen waren. Diese Pflanzen hatten nach einer Mitteilung des Gartendirektors, Prof. V. B. Wittrock's, seit dem Jahre 1890, wo sie erzogen waren, gesund gestanden, bis im Frühjahre 1895 eine Pflanze, jetzt etwa meterhoch, zahlreiche Rostblasen an dem untersten, 6 Jahre alten Gliede des Hauptstammes dicht am Boden zeigte. Noch waren die übrigen Pflanzen rein.

Man kann kaum umhin, hier einen Krankheitsfall zu sehen, der aus den Samen entstanden ist und zwar nach einer Inkubationsdauer von 6 Jahren. Es fand sich freilich in dem Gebiete von Bergielund, wie oben gesagt ist, eine ältere rostige Kiefer, die als diejenige Quelle angesetzt werden könnte, aus der die Krankheit der eben beschriebenen jungen Kiefernpflanze herzuleiten wäre. Die Wahrscheinlichkeit einer solchen Annahme ist jedoch meines Erachtens nicht groß. Erstens wuchs die ältere rostige Kiefer ziemlich weit, mehrere hundert Meter, von der jungen Pflanze entfernt, und es lagen Wald und Berg dazwischen, und wenn man etwas aus denjenigen Beobachtungen schließen darf, welche mit Rücksicht auf die Bedeutung der Entfernungen bei der Verbreitung gewisser anderer Rostpilzkrankheiten gemacht worden sind[3]), so muß man sich wohl hüten, eine so große Entfernung außer Acht zu lassen. Zweitens ist zu be-

---

1) Auch im Frühjahre 1896 stehen die 7 übriggebliebenen Pflanzen dieses Beetes völlig rein, während die des anderen Beetes zum größten Teile (90—95 Proz.) sehr stark blasenrostig sind.

2) Eine etwas kürzere Zeit scheint in Deutschland erforderlich zu sein. Es berichtet wenigstens H. Klebahn (Weitere Beobachtungen etc. p. XLVI), daß bei Oldenburg etwa 1000 vierjährige Weymouthskiefern infolge der Krankheit vollständig zu Grunde gingen und daß an einer anderen Lokalität junge Pflanzen von 4 Jahren an allmählich abstarben.

3) J. Eriksson, Neue Untersuchungen etc.

merken, daß die alte kranke Kiefer, so viel man sehen konnte, die einzige kranke unter zahlreichen gesunden, älteren sowie jüngeren, in dem dortigen Walde war und die Krankheit also nicht in ihre nächste Umgebung hatte verbreiten können. Drittens mag endlich nicht unerwähnt bleiben, daß die Krankheit der älteren kranken und der jüngeren kranken Kiefer insoweit verschieden auftrat, als an jener nur die schmalen Seitenäste Rostblasen trugen, der Hauptstamm aber rein war, während dagegen an dieser nur das älteste Glied des Hauptstammes rostig war. Diese habituelle Verschiedenheit, die auch an verschiedenen Lokalitäten in unseren Wäldern beobachtet worden ist [1]), kann den Verdacht erregen, daß hier zwei getrennte Arten vorliegen.

Es kann einem vielleicht im ersten Augenblicke schwer fallen, zur Erklärung der gemachten Beobachtungen, wie hier oben geschehen ist, eine 4—6 jährige Inkubationsdauer vorauszusetzen. Sucht man jedoch in der Litteratur nach analogen Fällen, in denen man zu einer ähnlichen Voraussetzung seine Zuflucht genommen hat, so dürfte man die wegen der vereinzelten Erscheinung dieser Thatsache etwa entstehenden Bedenken ohne weiteres fallen lassen können. Schon vor mehr als 30 Jahren sagt A. de Bary [2]), daß die Spermogonien und Aecidien von Endophyllum Sempervivi (Alb. u. Schw.) Wtr., welche im Frühjahre an überwinternden Blättern des Sempervivum tectorum hervorbrechen, aus einem Mycelium stammen, das aus den im vorigen Frühjahre infizierten alten Blättern durch den Stamm in die jungen, im Sommer gebildeten Blätter hineingewachsen ist, und daß bei einer anderen Species derselben Pilzgattung, bei End. Euphorbiae silvaticae (DC.) Wtr. auf Euphorbia amygdaloides, das Mycelium aus dem Rhizom der Wirtspflanze, in dem dasselbe überwintert, im Frühjahre allmählich in die neue Blattrosette hineinwächst, um nach einem oder mehreren Jahren zu fruktifizieren. Und wie oft findet man nicht in der neueren Litteratur bei fast allen hervorragenden Spezialforschern auf dem pflanzenpathologischen Gebiete Angaben von einer mehrere Monate, ja Jahre langen Inkubationsdauer, ehe der Ausbruch der Krankheit zu stande kommt, bald in Betreff der Parasiten der Bäume und Sträucher, bald in Betreff derer der mehrjährigen Kräuter.

Ein vielleicht berechtigteres Bedenken gegen die Annahme einer mehrjährigen Inkubationsdauer könnte der Umstand erregen, daß man bis jetzt nicht einmal mit Hilfe starker Mikroskopvergrößerung den Pilz in seinem langen Schlummerleben hat entdecken, noch auch, richtiger gesagt, diejenige Auffassung über das Leben des Parasiten in der Wirtspflanze, welche seit lange besteht, mit dem Gesehenen in Uebereinstimmung hat bringen können. Jedenfalls aber werden fortgesetzte Untersuchungen auf diesem Gebiete früher oder später auch diese Bedenklichkeit verschwinden lassen.

Wir haben jetzt das erste Hervortreten des Blasenrostes eines vorher gesunden Zweiges bezw. Baumes betrachtet und gehen nun zu der ebenfalls interessanten Frage über, wie der Pilz, nachdem er einmal auf dem Aste festen Fuß gefaßt hat, hier fortleben und sich von

1) A. Nilsson, Forstligt botaniska undersökningar etc. p. 63.

2) A. de Bary, Recherches sur le développement de quelques champignons parasites. (Ann. d. Sc. Nat. Sér. 4. Bot. T. 20. 1863. p. 87 etc.)

hier aus in die mit demselben zusammenstoßenden Zweige verbreiten kann. Weit weniger schwer erklärlich stellt sich diese Frage, wenn man die Litteraturangaben für wahr halten darf. Schon R. Hartig[1]) hebt als Resultat seiner umfassenden Untersuchungen über diese Krankheit hervor, daß sich das Mycelium des Pilzes jährlich von der Infektionsstelle aus in den Bast und das Cambium des Stammes verbreitet, bis dasselbe den ganzen Stamm umschließt und bisweilen ein Alter von 70 Jahren oder mehr erreichen kann. Derselbe Forscher[2]) fügt später hinzu, daß das Mycelium des Pilzes in der Längsrichtung des Stammes meist etwas schneller wachse als in horizontaler Richtung und daß der Parasit oft von der Astbasis aus auf den Hauptstamm abwärts vorrückend übergehe.

Ein besonderes Interesse für diese Frage bietet die in der obigen Tabelle (p. 387) als No. I beschriebene kranke Weymouthskiefer. An dieser fanden sich Rostblasen auf 4—11 Jahre alten Stammgliedern, teils an dem Hauptstamme selbst, teils an Seitenzweigen. Darauf folgten die Stammglieder 12—25, die sämtlich rein waren, und dann endlich das unterste, 26 Jahre alte Glied mit recht zahlreichen Rostblasen in den Rindenritzen. Wie soll man sich wohl diesen auffallenden Umstand erklären? Eine Möglichkeit wäre die, daß das Mycelium von den höher am Baume befindlichen rostigen Stammgliedern bis in das unterste Glied hinab gewachsen ist, ohne an irgend welcher Stelle seiner Bahn Rostblasen hervorgerufen zu haben. Eine solche Annahme ist mit derjenigen Ansicht gar nicht unvereinbar, welche Hartig über den Zuwachs des Myceliums ausgesprochen hat. Vielleicht ist es jedoch wahrscheinlicher, daß der Pilz in diesem alten Stammgliede weit früher, vor 15—20 Jahren, hineingekommen ist, zu einer Zeit, da an dem jetzt kahlen Stamme noch Seitenzweige vorhanden waren, und daß der Pilz von einem solchen Seitenzweige aus in das fragliche Hauptstammglied hinabgewachsen ist und sich von der Zeit an von einem Jahre bis zum anderen erhalten hat.

Eine dritte Erklärung für den Ursprung des Rostes auf diesem tief unten befindlichen Stammgliede fiel mir freilich ein, als ich dieses Phänomen beobachtete, nämlich, daß das Harz, welches an solchen kranken Bäumen den Stamm hinab zu fließen pflegt, die Krankheit auf die untenliegenden Stammglieder verbreiten könnte, indem die Rostsporen, welche bei der Erschütterung der höher sitzenden rostigen Zweige ausstäuben und immer mehr oder minder reichlich an dem Harze kleben bleiben, an diesem einen besonders passenden Keimboden finden und der infolgedessen erstarkte Keimfaden der Spore befähigt wird, die dicke und feste Stammrinde zu durchbohren. Besondere Versuche, diese Sporen auf solchem Harze zur Keimung zu locken, fielen jedoch durchaus negativ aus, infolgedessen ich jeden Gedanken daran abweisen muß, daß die Krankheit sich mit dem hinunterfließenden Harze verbreiten könne.

Um, wenn möglich, die Richtigkeit derjenigen Ansichten, welche hier oben über die Verbreitung des Blasenrostes von einer Kiefer zu der anderen ausgesprochen worden sind, einst beweisen zu können

1) R. Hartig, Wichtige Krankheiten etc. p. 69.
2) R. Hartig, Lehrbuch der Baumkrankheiten. p. 147.

führte ich im Frühjahre 1895 eine Anzahl Infektionsversuche aus, teils mit Per. Strobi an kleinen Weymouthskiefern von dem oben besprochenen reinen Pflanzenbeete, teils mit den beiden Formen des Blasenrostes der gemeinen Kiefer, welche in den Versuchen des Jahres 1895 vorlagen, auf kleinen Pflanzen dieser Kiefer. Alle infizierten Sprossen sind so markiert worden, daß sie nach Jahren wieder gefunden werden können, und diese Pflanzen sind nebst einigen nicht infizierten Vergleichspflanzen in den Versuchsgarten verpflanzt worden. Resultate dieser Versuche sind jedoch, wenn die hier ausgesprochene Auffassung einer wenigstens vierjährigen Inkubationsdauer richtig ist, auch im glücklichsten Falle nicht vor dem Frühjahre 1899 oder 1900 zu erwarten.

Die im Vorhergehenden beschriebenen Beobachtungen und darauf gegründeten Ansichten über die Natur, Herkunft und Verbreitung des Kiefernblasenrostes können auf folgende Weise zusammengestellt werden. Es ist anzunehmen:

1) daß die auf der Weymouthskiefer (Pinus Strobus) und der gemeinen Kiefer (Pin. silvestris) in Schweden auftretenden Blasenrostformen unter einander nicht so scharf getrennt sind, wie es mit denjenigen drei Formen von Blasenrost auf denselben Kiefernarten der Fall zu sein scheint, welche man im Auslande als drei verschiedene Species unterschieden hat — Peridermium Strobi Kleb. auf der Weymouthskiefer, sowie Per. Cornui Rostr. u. Kleb. und Per. Pini (Willd.) Kleb. auf der gemeinen Kiefer, — sondern vielmehr als an die betreffenden Wirtspflanzenarten mehr oder weniger streng gebundene specialisierte Formen einer und derselben Species aufzufassen sind;

2) daß, da der Blasenrost der Weymouthskiefer in Schweden erst in den letzten 10—15 Jahren beobachtet worden ist, obgleich diese Kiefernart seit sehr langer Zeit daselbst kultiviert worden ist und obgleich Cronartium ribicolum Dietr., das ein Entwickelungsstadium des Pilzes bildet, seit wenigstens 25 Jahren, ja wahrscheinlich noch länger, ein Gast unserer Gärten ist, man wohl vermuten kann, daß der jetzt so verbreitete Blasenrost unserer Weymouthskiefern zum wesentlichen Teile nicht als Folge einer Ansteckung von filzrostigem Ribes nigrum her aufzufassen ist, sondern als das Resultat eines vom Auslande in jüngster Zeit eingeführten kranken Stammes, von Samen oder Keimpflanzen dieser Kiefernart;

3) daß, da das Fortsetzungsstadium dieser Blasenrostspecies, Cr. ribicolum Dietr. auf Ribes nigrum, sowie auch das Cr. asclepiadeum (Willd.) Fr., das das Fortsetzungsstadium des Per. Cornui Rostr. u. Kleb. der gemeinen Kiefer bildet, an einer und derselben Lokalität von einem Jahre zu dem anderen fortleben kann, wenn auch kein Exemplar der betreffenden Kiefernart in der Nähe vorhanden ist oder an den benachbarten Kiefern kein Blasenrost hat entdeckt werden können, man annehmen muß, daß die genannten Blasenrostgenerationen an und für sich fakultativ sind, d. h. daß die Filzrostgeneration

von einem Jahre zu dem anderen fortleben könne, ganz unabhängig davon, ob eine Blasenrostgeneration zur Entwickelung kommt oder nicht;

4) daß eine direkte Verbreitung des Blasenrostes von einer Kiefer zu der anderen — und zwar nicht nur der Blasenrostform der gemeinen Kiefer, welche Per. Pini (Willd.) Kleb. genannt worden ist und für welche sich noch kein Wirtswechsel hat nachweisen lassen, sondern auch die der fakultativ wirtswechselnden Arten, die Per. Strobi und Per. Cornui heißen — wohl anzunehmen ist, und zwar wahrscheinlich an den während des Frühjahres auswachsenden jungen Schößlingen, daß aber der Pilz eine 4—5jährige Inkubationsdauer braucht, ehe der Krankheitsausbruch zu stande kommt; und

5) daß man vermuten muß, daß die Krankheit bisweilen aus einem kranken Samen entstehen kann, auch in diesem Falle jedoch erst nach einer Inkubationsdauer von mehreren, vielleicht wenigstens 6 Jahren.

Zu welchen Maßregeln gegen die Krankheit, so mag man wohl zuletzt fragen, kann diejenige Auffassung der Natur und der Bedingungen des Pilzes, welche oben dargestellt worden ist, auffordern? Diese Frage dürfte, so weit es dem hier besonders beschriebenen Weymouthskiefernrost gilt, auf folgende Weise beantwortet werden können:

1) Man untersuche genau und zu wiederholten Malen seine Weymouthskiefern Ende April und Anfang Mai, da die Krankheit, wenn überhaupt vorhanden, gerade zu dieser Zeit zuerst zum Vorschein zu kommen pflegt.

2) Findet man die Krankheit an kleineren, 8—10 Jahre alten Pflanzen, und zwar am Hauptstamme, so lasse man, nachdem alle Blasensammlungen, um die Sporenverstäubung zu verhindern, mit Teer oder dergl. bestrichen worden sind, ohne Aufschub die Pflanzen umhauen oder mit der Wurzel ausreißen und dann verbrennen.

3) Sind die kranken Pflanzen älter, so lasse man es teils von dem Umfange, den die Krankheit schon genommen, teils von dem mehr oder weniger kräftigen allgemeinen Aussehen der Pflanzen abhängen, ob man mit diesen Bäumen auf dieselbe Weise wie mit den kleinen kranken Pflanzen verfahren oder ob man einen Versuch machen soll, dieselben zu retten. Entschließt man sich für einen Rettungsversuch, so

a) entferne man mittels des Messers und verbrenne solche kranken kleineren Seitenäste, die sich abschneiden lassen, ohne den Baum zu sehr zu verunstalten, und

b) verfahre mit den übrigen kranken Gliedern so, daß man, sobald Rostblasen an denselben sichtbar werden, dieselben ringsum und zu wiederholten Malen mit Teer oder vielleicht noch besser, z. B. mit einem Brei von Teer und Kalk bestreicht, um teils den Sporenstaub unschädlich zu machen und das Herumfliegen desselben zu verhindern, teils, wenn möglich, das in dem Inneren

des Stammes lebende Pilzmycelium zu beeinträchtigen, das wahrscheinlich dadurch leiden muß, daß dasselbe außer stand gesetzt wird, seine Sporen normal zu entwickeln, wenn es von dem freien Zutritte der Luft zu dem kranken Gewebe abgeschnitten wird.

4) Eine ähnliche Bestreichung mit Teer oder Teerkalk versuche man auch im Hochsommer zu der Zeit, wo sich an den Stammgliedern, die im folgenden Jahre Rostblasen tragen werden, die sogen. Spermogonien in der Gestalt sehr kleiner Blasen zeigen, welche an der Spitze bersten und aus dieser eine klebrige Flüssigkeit herausfließen lassen.

5) Hat man in seinem Garten oder Parke gesunde ältere Weymouthskiefern, so pflanze man keine kleineren, anderswoher angeschaffte Pflanzen in denselben, sondern sammle anstatt dessen, wenn man diese Kiefernspecies in größerem Umfange anbauen will, von seinen eigenen gesunden Bäumen Samen und ziehe aus diesen selbst junge Pflanzen.

6) Weymouthskiefern und Ribesarten, z. B. Ribes nigrum, R. aureum, R. rubrum u. a. dürfen nicht in der Nähe von einander gebaut werden, da der Filzrost, der im Spätherbste oft die untere Fläche der Blätter dieser Sträuche, besonders bei R. nigrum, bedeckt, die Weymouthskiefer blasenrostig machen kann.

7) Im Spätherbste sammle und verbrenne man so sorgfältig wie nur eben möglich alle filzrostigen Ribesblätter.

8) Endlich sei an diejenigen Garten- und Parkbesitzer, welche noch ältere gesunde Bäume von der Weymouthskiefer besitzen, eine Aufforderung gestellt, von diesen gesunden Bäumen Samen einzusammeln und aus denselben junge Pflanzen in dem Umfange zu erziehen, daß diese hübsche Kiefernart, auch künftig noch einmal gesund und kräftig, unsere feinen Garten- und Parkanlagen möchte zieren können.

21. Mai 1896.

Die Entwickelungsreihen der parasitischen Exoasceen.

Von

K. Giesenhagen.

In dem unter derselben Ueberschrift auf p. 237 des gleichen Bandes dieser Zeitschrift erschienenen Referat über meine Untersuchungen schreibt der Referent, nachdem er einige Sätze aus meiner Arbeit aus dem Zusammenhange herauscitiert hat: „Damit ist das Prinzip, die Pilze nach ihren Nährpflanzen einzuteilen, auf die Spitze getrieben.“ Da ich durchaus kein Anhänger eines derartigen Prinzipes bin und da mir daran liegt, von den Lesern dieser Zeitschrift richtig verstanden zu werden, möchte ich mir erlauben, meinen Standpunkt, welcher aus dem Referate nicht klar ersichtlich ist, hier in Kürze darzulegen.

Ich teile die parasitischen Exoasceen nach morphologischen Merkmalen, nämlich nach der Form der Asken in zwei Gattungen,

Taphrina und Magnusiella. In der Gattung Taphrina unterscheide ich wiederum nach der Form der Asken mehrere Stämme. Innerhalb der Stämme unterscheide ich verschiedene Artgruppen gleichfalls hauptsächlich nach der Uebereinstimmung in Form und Größe der Asken. Da es unmöglich ist, die Feinheiten der Formnüancen, welche der Gruppeneinteilung zu Grunde liegen, allgemeinverständlich in Worte zu kleiden, habe ich meiner Arbeit gegen 50 Skizzen von Askenformen verschiedener Arten beigegeben, so daß der Leser durch Vergleichung der Figuren sich überzeugen kann, daß in den von mir angenommenen Artgruppen wirklich die ähnlichen Askenformen zusammenstehen. In der Form und Größe der Asken glaube ich also ein morphologisches Merkmal gefunden zu haben, das uns gestattet, die natürliche Verwandtschaft der Arten zu erkennen.

Die Thatsache, daß bei der Gruppierung nach diesem Merkmale gerade immer diejenigen Formen neben einander zu stehen kommen, welche auf verwandten Nährpflanzen leben, bestätigt, wie ich glaube, meine Annahme und giebt mir zugleich Anlaß über die Ursache dieses doch offenbar höchst merkwürdigen Zusammentreffens meine Ansicht zu äußern und daraus weitere Schlüsse zu ziehen. Es ist mir indes nicht in den Sinn gekommen, die für die parasitischen Exoasceen konstatierte Beziehung zwischen der auf morphologischen Merkmalen begründeten systematischen Gruppierung der Arten und der Verwandtschaft ihrer Nährpflanzen auch für andere Pilzgruppen zu behaupten oder gar als ein allgemein giltiges Prinzip zu betrachten. Ob ähnliche Beziehungen noch in anderen Gruppen der parasitischen Pilze etwa bei den Uredineen aufzufinden sind, kann nach meiner Ansicht ohne eingehendste Prüfung jedes einzelnen Falles weder behauptet noch geleugnet werden.

Referate.

Rothenbach, F., Die Dextrin vergärende Hefe Schizosaccharomyces Pombe und ihre eventuelle Einführung in die Praxis. (Zeitschrift f. Spiritusindustrie. 1896. No. 8—15.)

Beobachtet wurde die Negerhefe, Schizosaccharomyces Pombe, zuerst von Saare[1]) in einem Biere, welches die deutschostafrikanischen Neger aus Hirse (Dari) bereiten und mit dem Namen „Pombe" bezeichnen. Lindner[2]), unter dessen Leitung es Zeidler gelang, eine Reinkultur dieser Hefe herzustellen, studierte ihre Eigenschaften genauer, erkannte ihren Spaltpilzcharakter und gab ihr, indem er eine neue Gattung Schizosaccharomyces aufstellte, den Namen Schizosaccharomyces Pombe.

1) Wochenschrift f. Brauerei. 1890. No. 24.
2) Wochenschrift f. Brauerei. Jahrg. X. p. 1298.

Bei vergleichenden Gärversuchen mit den Hefen Pombe, Frohberg (untergärig) und der obergärigen Hefe Rasse II, die der Verf. im wissenschaftlichen Laboratorium der Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei zu Berlin ausführte, stellte es sich heraus, daß die Spalthefe Pombe diastasefreie Würzen beträchtlich weiter vergor, als die beiden mit ihr in Vergleich gestellten Hefen. So wurde eine 24-proz. gekochte Vorderwürze von Pombe bis 2,2 Proz. Balling, von Frohberg bis 4,0 Proz. und von Rasse II bis 3,5 Proz. vergoren. In den mit Frohberg und Rasse II bis zur Endvergärung vergorenen Bieren rief Hefe Pombe noch eine weitere Vergärung von etwa 1,5 Proz. Bll. hervor. Da bekanntlich die Hefen vom Typus Frohberg sämtliche Zuckerarten in Würzen vergären, so war anzunehmen, daß Pombe Dextrin vergärt. Hierfür wurde vom Verf. der direkte Beweis erbracht. Nach Lintner's Angaben dargestelltes Diastasedextrin, welches Hefe Frohberg vollständig intakt ließ, wurde von Pombe ungefähr zur Hälfte vergoren, zurück blieb ein für dieselbe unangreifbares Achroodextrin, das sich auf Zusatz von Alkohol nach längerer Zeit in Sphärokrystallen ausschied. Gärversuche mit der von van Laer entdeckten Logoshefe[1]) ergaben, daß dieselbe das Pombe-Achroodextrin nicht vergären konnte, wohl aber den anderen Teil des Dextrins.

Ueber die Existenz zweier Achroodextrine berichteten schon Lintner und Düll[2]), auch nach Mittelmeier[3]) giebt es zwei Achroodextrine. Der Verf. gelangte, wie eben gezeigt, mit Hilfe der gärungsphysiologischen Methode zu demselben Resultate, nämlich: daß mindestens zwei Achroodextrine existieren müssen.

Das Temperaturoptimum für die Pombegärung liegt zwischen 24—28° R; der Charakter ist bei dieser Temperatur ein obergäriger. Bei 10—15° R geht die Gärung sehr langsam vor sich, die Vermehrung ist nur schwach; die Hefe setzt sich aber gut ab und zeigt im Gärungsbilde untergärigen Charakter[4]). Aus der Rubrik der Tabelle I: Säurezunahme während der Gärung, ausgedrückt in Säuregraden (d. h. in ccm N.-Natron pro 20 ccm Würze), entnehmen wir, daß die Säurezunahme bei Pombe größer ist als bei den anderen Hefen. So wurde z. B. in einer Maische von 28,6 Proz. Bll. und 0,3° Säure mit der Pombehefe ein Endsäuregehalt von 1,2° erreicht, ohne daß Bakterien hierbei thätig gewesen wären. Die Eigenschaft der Pombehefe, Säure zu produzieren, ist demnach stärker ausgebildet als bei anderen Hefen; ihr Spaltpilzcharakter tritt deutlich in dieser Eigentümlichkeit zu Tage. Bei zunehmender Konzentration der zu vergärenden Würze steigt die Säureproduktion. (Diese Erscheinung, auf die der Verf. wiederholt hinweist, dürften mit der Pombe wohl sämtliche Kohlehydrate zersetzenden Organismen teilen. Es ist bekannt, daß die in Getreidemaischen vorkommenden Milchsäurebakterien

1) Moniteur scientifique. 1895. p. 499. Siehe auch Windisch, Wochenschrift f. Brauerei. Jahrg. XII. No. 28.

2) Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. 1894. No. 41 und Ber. d. deusch-chem. Gesellschaft. 1895. Jahrg. 28.

3) Mitt. d. österr. Versuchsstation f. Brauerei und Mälzerei. 1895. Heft VII.

4) Die Spalthefe Pombe verhält sich Melitriose gegenüber wie obergärige Hefe; d. h. sie spaltet wohl diese Zuckerart in Melitriose und Fruktose, vergärt aber nur die letztere. D. Ref.

in konzentrierteren Maischen mehr Säure bilden als in weniger konzentrierten, allerdings nicht proportional der Konzentration, denn dieselben sind gegen ihre eigenen Stoffwechselprodukte sehr empfindlich und gehen, sobald diese eine bestimmte Menge erreicht haben, darin zu Grunde. Der von Wehmer gefundene Citromycespilz, welcher Citronensäure produziert, scheint eine Ausnahme zu machen, die Säure kann bis zu 4 Proz. und darüber steigen, ohne daß das Wachstum wirklich gehemmt wird. Auch die Saccharomycesarten erzeugen auf Kosten der alkoholbildenden Stoffe Säuren (Milchsäure, Bernsteinsäure; Pasteur) und desto reichlicher, je mehr zerlegbare Zucker vorhanden sind, wenn auch nicht in dem Maße wie Pombe. D. Ref.)

Versuche, Pombe an größere Mengen Säure (Milchsäure, Flußsäure) zu gewöhnen (Effront) ergaben ein negatives Resultat. Die Spalthefe verliert bald ihr Gärvermögen und geht später zu Grunde. Sie hat also die Empfindlichkeit gegen fremde Säuren mit den Bakterien gemeinsam. (Vielleicht wäre an diesem Orte eine Untersuchung der Empfindlichkeit der Pombe gegenüber größerer Mengen der eigenen produzierten Säure nicht ohne Interesse gewesen. D. Ref.) Durch fernere Versuche, die in ausführlichen Tabellen zusammengestellt sind, wurde dargethan, daß die Pombe Spaltpilze unterdrückt. In Konkurrenz traten mit derselben Essigsäure, Milch- und Buttersäurestäbchen, Bacterium termo (dieses nur zu Beginn der Gärung), ferner waren noch anwesend Schimmelpilzsporen und vereinzelt wilde Hefen. Auch wurde festgestellt, daß die Spalthefe größere Mengen von ihr selbst erzeugten Alkohols ohne erheblichen Nachteil längere Zeit ertragen kann.

Versuche, die angestellt wurden, um zu erfahren, wie sich die Pombehefe zu hochprozentigen diastasehaltigen Maischen verhält, ergaben, daß dieselbe hier ebenfalls mehr als die zum Vergleiche herangezogene Rasse II leistet.

Zur Vergärung kamen zunächst aus Kartoffelstärke, Malz und Rohrzucker hergestellte Maischen. Am weitesten ging die Vergärung in offenen Gefäßen; die Gärdauer betrug 90 Stunden bei einer Temperatur zwischen 20 und 22 ° R. Aus der angeführten Tabelle ergiebt sich ferner, daß ein Gemisch von Pombe und Rasse II mehr leistet als Pombe allein. Eine 28,6-proz. Maische vergor mit 1 Proz. Pombe in offenem Becherglase bis 3,45 Proz. Bll., mit 1 Proz. Rasse II bis 4,1 und mit einem Gemische von 0,7 Proz. Pombe und 0,3 Proz. Rasse II bis 1,15 Proz. Bll. Verf. sucht den Grund hierfür entweder darin, daß das Enzym der Pombe Dextrin invertiert hat, wodurch der Rasse II eine höhere Vergärung ermöglicht wurde oder in der durch die Konkurrenz beider Hefen bis zur letzten Anspannung angeregten starken Thätigkeit der Spalthefe. Für letztere Erklärungsweise spricht das mikroskopische Bild. Namentlich hatte die Pombe stark gelitten, sie war zum größten Teile abgestorben, während sie allein geführt nach 90-stündiger Gärung noch ein leidliches Aussehen zeigte. [Ref. möchte sich der zweiten Erklärung anschließen und darauf hinweisen, daß er dieselbe Erscheinung bei einem Gemische von obergäriger Hefe (Rasse II) und einer untergärigen Hefe vom Frohbergtypus beobachtet hat. (Siehe Zeitschrift f. Spiritusindustrie.

1895. p. 198, 205.) Die Mischhefe ergab die höchsten Alkoholerträge. Die Gärung war nach 5 Tagen zu Ende und erst nach Verlauf dieser Zeit waren der Alkoholgehalt und die Vergärung ermittelt worden. Versuche, die in der Praxis mit jener Mischhefe ausgeführt wurden, ergaben dies günstige Resultat nicht; es konnte nach der gesetzlichen Gärzeit von 72 Stunden nicht mehr erzielt werden als mit Rasse II allein. Hiernach hat es den Anschein, als ob das Plus der Vergärung erst nach mehr als dreitägiger Gärung zur Geltung kommt.]

Um festzustellen, ob nicht noch bessere Resultate zu erzielen seien, wenn die Hefen ursprünglich getrennt und erst in einem späteren Gärungsstadium vereinigt würden, wurden vom Verf. nach dieser Richtung weitere Versuche angestellt. Es ergab sich, daß eine 42-stündige getrennte Gärzeit am vorteilhaftesten war. Erfolgte die Mischung nach 66 Stunden, so wurde eine um ca. 2 Proz. Bll. geringere Vergärung erzielt. Wesentlich bessere Resultate scheinen hierbei nicht erlangt worden zu sein. Die etwas höhere Vergärung der ursprünglich getrennt und erst in einem späteren Gärungsstadium vereinigten Hefen (Tabelle VIII B und C des Originals) gegenüber der in Tabelle VI C und E (Hefen gleich zu Anfang der Gärung vereinigt), ist zu gering, um daraufhin der letzteren Art der Ausführung (zu Anfang getrennte Gärung) den Vorzug geben zu wollen. Aus Tabelle VII berechnet sich der Vergärungsgrad zu ungunsten der erst getrennt geführten und dann vereinigten Hefen. Im weiteren Verlaufe dieses Abschnittes seiner Arbeit weist Verf. darauf hin, daß in der Regel Umsetzungsprozesse sich im Großbetriebe schneller vollziehen als im kleinen. Es war daher auch bei den Versuchen eine längere Gärdauer als in der Praxis gewählt worden, aber trotzdem war nicht immer der Endvergärungsgrad, der in dem betreffenden Falle hätte erzielt werden können, erreicht worden. Es wurden daher eigens Versuche in dieser Hinsicht mit Pombe im Vergleiche mit Rasse II angestellt. Die Maischen waren aufgekocht, also diastasefrei. Da aber Pombe in erheblichem Maße Säure bildet, die auf Kosten der alkoholbildenden Stoffe entsteht, die Alkoholausbeute somit durch die Säure vermindert wird, so suchte Verf. die Säurebildung der Pombehefe aufzuheben, und zwar:

1) durch Neutralisation mit kohlensaurem Kalk,
2) durch eine künstlich bewirkte Säuerung mittelst Milchsäure.

Durch die Anwendung des unter 1) angegebenen Verfahrens dürfte wohl kaum der beabsichtigte Zweck erreicht werden[1]), es wird im Gegenteil durch die Neutralisation der Säurebildung auf Kosten der alkoholbildenden Kohlehydrate gerade Vorschub geleistet. Diesen Kunstgriff der Neutralisation wendet man, um ein praktisches Beispiel zu wählen, bekanntlich bei der Gewinnung von Milchsäure an. Würde man die sich bildende Säure nicht binden, so wäre die Folge ein baldiges Absterben der Milchsäurebakterien und damit selbstverständlich auch der weiteren Säureproduktion Einhalt gethan. Die reichlichste und rascheste Säureausbeute wird erzielt, wenn man überhaupt kein saures Medium entstehen läßt, sondern dafür sorgt, daß immer ein

1) Allerdings war ein analoges Verhalten der säurebildenden Spaltpilze und der Pombe nicht von vornherein vorauszusagen. Von dieser Annahme ausgehend erscheinen daher die mit kohlensaurem Kalk angestellten Versuche gerechtfertigt. (D. Ref.)

Ueberschuß des Neutralisationsmittels vorhanden ist, damit die Säure in dem Maße, wie sie entsteht, neutralisiert und somit ihre gärungsstörende Wirkung beseitigt wird. Sehen wir uns die diesbezüglichen Versuche des Verf.'s an, so ergiebt sich, daß Pombe eine 29,4-proz. Maische bei einem Zusatze von 1 g kohlensaurem Kalk auf 300 ccm Maische bis zu 1,45 Balling vergor, die Alkoholausbeute 16,5 Vol.-Proz. betrug und die Säurezunahme 0,45° (d. h. 20 ccm vergorene Maische = 0,45 ccm N.-Natron) und daß der kohlensaure Kalk zur Hauptmenge verschwunden war [1]). Ohne Zusatz von kohlensaurem Kalk war dieselbe Maische bis 0,8 Bll. vergoren, der Alkoholgehalt betrug 16,9 Vol.-Proz. und die Säurezunahme 0,6° (Gärzeit 6 Tage bei 22—28° R, 1 Proz. Hefengabe). Das Resultat ist demnach zu ungunsten der Neutralisation ausgefallen oder mit anderen Worten, die Säurebildung der Pombe ist auf Rechnung der alkoholbildenden Stoffe durch Zugabe von $CaCO_3$ begünstigt worden. Berechnet man die von Pombe gebildete Säure auf Milchsäure, so würde 1 g $CaCO_3$ 1,8 g Säure pro 300 ccm Maische entsprechen; auf ccm N.-Natron umgerechnet = 20 ccm N.-Natron und demnach haben 20 ccm Maische einem Säuregrad von 1,33 N.-Natron. Die gesamte Säurezunahme würde also 1,33° + 0,45° = 1,78° betragen gegenüber 0,6°.

Auch scheint die künstlich bewirkte Säuerung nicht den gewünschten Erfolg gehabt zu haben, denn zufolge der Rubrik „Säurezunahme während der Gärung" (Tabelle IX des Originals) bleiben die Zahlen dieselben, ganz gleich ob ohne oder mit Säurezusatz bis zu 3,1° gearbeitet wurde; wohl aber tritt eine verminderte Vergärung bei größerem Säurezusatze ein, also eine Schwächung der Pombe in ihrer Gärkraft [2]). (D. Ref.)

Es folgen nun die Versuche mit Kartoffelmaischen, die bezweckten, die Pombehefe der Praxis dienstbar zu machen. Leider war der praktische Erfolg bis jetzt nicht der erhoffte. Den Grund für die Mißerfolge in der Praxis glaubt der Verf. in der schwachen Vermehrung der Spalthefe in den Kartoffelmaischen gefunden zu haben.

A. Laboratoriumsversuche: 5 kg Kartoffeln wurden mit 250 g Grünmalz vermaischt. Die 21-proz. Maischen vergor Rasse II bei einer Hefengabe von 2 Proz. nach 6-tägiger [3]) Gärzeit bis 1,85 Bll., Alkoholausbeute 10,1 Vol.-Proz. Pombe vergor die Maische bis 2,2 Bll., Alkoholausbeute 10,25 Vol.-Proz. Verf. schließt hieraus, wofern kein analytischer Fehler vorliegt, daß die Pombengärung reiner verlaufen ist als die der Rasse II.

B. Versuche in der Praxis: Die Pombengärung in einer 20,15-proz. Kartoffelmaische setzte zwar schnell ein, verlief aber nicht energisch. Am dritten Tage war die Gärung träge. Gärtemperatur anfangs 24° R, im späteren Verlaufe 27—28° R. Nach 72 Stunden war die Maische erst auf 7,7 Bll. vergoren. Beim Abbrennen am

1) Da eine Säurezunahme konstatiert ist, so muß wohl sämtlicher kohlensaure Kalk zersetzt worden sein. (D. Ref.) Dieser Ansicht ist nach persönlicher Mitteilung auch der Verf., derselbe berichtigt seine Angaben dahin, daß die Hauptmenge des Bodensatzes verschwunden war. Der kohlensaure Kalk hatte sich zu einem löslichen und einem unlöslichen organischen Kalksalze umgesetzt.

2) Dieselbe Erscheinung tritt auch bei Hefe Rasse II hervor. (D. Ref.)

3) Nach 3 Tagen war die Maische von Rasse II bis 2 Proz. Bll., von Pombe bis 28, Proz. Bll. vergoren.

5. Tage[1]) zeigte die Maische eine Sacch.-Anzeige von 5 Proz.; Säurezunahme 2,35° (Infektion durch Spaltpilze?). Ein andermal war eine 24,6-proz. Maische nach einer 68-stündigen Gärzeit bis 6,4 Bll. vergoren. Die Zählung ergab eine nur sechsfache Vermehrung der Pombe (nach Maercker, „Handbuch der Spiritusfabrikation", beträgt die Vermehrung von Brennereihefe in der Hauptmaische im Mittel etwa das Dreizehnfache. D. Ref.), außerdem wurde eine deutliche Infektion durch Spaltpilze und Brennereihefe wahrgenommen. Die Infektion muß um so auffallender erscheinen, da doch, wie durch Laboratoriumsversuche erwiesen wurde, die Pombe im stande ist, Bakterien zu unterdrücken. Nach dem Verf. liegt der Grund dieser Erscheinung in der zu schwachen Vermehrung der Pombe in den Kartoffelmaischen. Infolge dessen konnte nur wenig Säure produziert werden und der Verlauf der Gärung nur träge von statten gehen, wodurch, zumal bei der hohen Temperatur, der Entwickelung von Spaltpilzen nichts entgegen wirkte.

Es galt jetzt festzustellen, wie dem geringen Vermehrungsvermögen der Pombe in Kartoffelmaischen abzuhelfen sei. Aus den diesbezüglichen angestellten Laboratoriumsversuchen geht hervor, daß bei Luftzufuhr eine wesentlich bessere Vermehrung und demzufolge auch eine höhere Vergärung erzielt wird. In der Praxis wird aber eine Lüftungsvorrichtung auf Schwierigkeiten stoßen, es wurde daher noch versucht, die Vermehrung durch andere Mittel anzuregen. In der Kartoffel sind Phosphorsäure und Magnesia nur in geringer Menge enthalten, so daß die schwache Vermehrung der Pombe möglichenfalls in dem Mangel an diesen beiden Stoffen ihren Grund haben konnte. Doch waren durch einen entsprechenden Zusatz von Magnesia und Phosphorsäure bei einer geringen Hefenaussaat keine nennenswerten Erfolge zu erzielen, dagegen gestaltete sich das Resultat bei Anwendung von saurem Ammoniumphosphat und einer starken Hefenaussaat günstiger. Die Versuche sollen fortgesetzt, auch welche angestellt werden, welche bezwecken, die in Malzmaischen gut gedeihende Spalthefe durch einen allmählich gesteigerten Zusatz von Kartoffelmaische zu der ersteren langsam an reine Kartoffelmaische zu gewöhnen.

Die Ergebnisse seiner Untersuchungen stellt der Verf. in folgenden Sätzen zusammen:

1) Die Pombehefe erreicht einen höheren Endvergärungsgrad in diastasefreien Verzuckerungsprodukten der Stärke als die Hefen vom Typus Frohberg.

2) Die Pombehefe vergärt einen Teil der Achroodextrine, Hefe Logos den anderen, unter der Voraussetzung, daß nur zwei Achroodextrine existieren.

3) Es sind sonach folgende für die Gärungswissenschaft hauptsächlich in Betracht kommende Hefetypen zu unterscheiden: Saaz, Frohberg, Logos, Pombe.

4) Die Spalthefe ist befähigt, verhältnismäßig viel Alkohol zu bilden.

5) Die Spalthefe bildet Säure, und zwar um so mehr, je höher die Konzentration der zu vergärenden Zuckerlösung ist.

---

1) Die Erlaubnis zu einer längeren Gärdauer als 72 Stunden war seitens der Steuerbehörde erteilt worden.

6) Die Pombe unterdrückt Spaltpilze, sofern die Hefeaussaat nicht zu gering ist.

7) Die Pombevergärung verläuft bei niederer Temperatur langsam, in diesem Falle hat die Spalthefe untergärigen Charakter. Bei hoher Temperatur (24—28 ° R) ist die Gärung sehr energisch, die Pombe ist unter diesen Bedingungen eine obergärige Hefe.

8) Bei genügender Aussaat leistet die Pombehefe in der Vergärung diastasehaltiger Würzen resp. Maischen während derselben Zeit mehr als Brennereihefe Rasse II.

9) Indessen ist ihr Vergärungsvermögen in Kartoffelmaische ohne künstliche Anregung (Lüftung, chemische Agentien) sehr gering.

10) Mischungen von Rasse II und Pombe leisten in derselben Zeit mehr, als die Komponenten für sich allein.

Munsche (Wandsbek-Hamburg).

Lippert, Chr., Die gemeine Halmwespe, Cephus pygmaeus L. (Wiener landwirtschaftliche Zeitung. 1896. p. 248.)

Verf. giebt eine genaue Beschreibung dieses Schädlings, der die Roggen- und Weizensaaten in empfindlicher Weise schädigt oder sogar vernichtet. Das Weibchen legt die Eier zu je einem Stück in einen der obersten Halmknoten und entschlüpft nach 8—10 Tagen die fußlose Larve, welche sogleich mit dem Fraß im Innern des Halmes beginnt, und eine Länge von 8—10 mm erreicht. Die Larven benagen in der Folge die Innenwände der Halmröhren, durchbeißen nach und nach die sämtlichen Knoten und beziehen gegen Mitte August das charakteristische Winterlager, welches in den meisten Fällen in dem kurzen Halmgliede zwischen den Kronenwurzeln und dem ersten Knoten dicht über dem Boden liegt, nicht selten aber in die Kronenwurzeln selbst hineinragt und sich ganz oder teilweise unter der Erdoberfläche befindet. Im Winterlager spinnt die Larve einen Cocon und ruht in demselben unverwandelt bis zum nächsten Frühjahr, wo sie dann die Larvenhaut abstreift, zur Puppe wird, und nach etwa 14-tägiger Puppenruhe als geflügelte Wespe zum Vorschein kommt. Statt dieser Wespe erscheint aber manchmal eine an Gestalt und Farbe etwas ähnliche Schlupfwespe (Pachymerus calcitrator Gr.), ein Parasit, dessen Larve in jener der Halmwespe lebt und sie tötet. Zur Bekämpfung der gemeinen Halmwespe ist es vorteilhaft, den Schnitt des Getreides verhältnismäßig früh und sehr tief eintreten zu lassen, wodurch viele Larven mit dem Stroh eingeerntet werden und zu Grunde gehen. Als radikalstes Mittel zur Vertilgung ist das tiefe Unterpflügen der Stoppeln noch im Herbst zu nennen, weil durch diese Maßregel die ruhende Larve in ihrer Weiterentwickelung gehemmt wird.

Stift (Wien).

Perseke, Zur Bekämpfung des Bandholzkäfers (Phratora) in den Elbmarschen. (Dtsche landwirtschaftl. Presse. 1896. p. 251.)

Der Käfer Phratora hat in den letzten 4 Jahren in den Bandholzweiden der Elbmarschen von Holstein und Hannover nach der Schätzung einen Schaden von einer Million Mark verursacht. Der glänzende stahlblaue, bisweilen grünlich schimmernde Käfer kommt

in 3 Arten vor, welche den Erdflöhen der Kohlgewächse gleichen, aber nur größer sind (4—5 mm lang). Bezüglich der Bekämpfung ist folgendes hervorzuheben: Die Vertilgung muß rechtzeitig geschehen, die Verstecke für die Ueberwinterung (angeschwemmte Halme, Pflanzenreste u. m.) sind thunlichst einzuschränken und die Vertilgung muß entsprechend der Entwickelung und Lebensweise des Insekts erfolgen. Zum Einfangen der Käfer hat sich ein, einer leichten Schubkarre ähnlicher, Fangapparat praktisch bewährt, welcher Mitte April zur Anwendung gelangt. Da aber die Bemühungen des Einzelnen zur Bekämpfung des Schädlings wenig nützen würden, so sind behördliche Verordnungen und planmäßiges Einschreiten aller Interessenten des gefährdeten Bezirks durch Bildung von Flurgenossenschaften und Schaukommissionen notwendig.

Stift (Wien).

Saccardo, P. A. e Mattirolo, O., Contribuzione allo studio dell' Oedomyces leproides Sacc. nuovo parassita della barbabietola. (Malpighia. Anno X.)

Die Krankheit der knolligen Wurzeln der Runkelrüben, welche im Jahre 1894 in den Experimental-Feldern der französischen Ackerbauschule zu Roniba in Algerien ausbrach, und welche auch in einigen Gegenden Ober-Italiens zum Vorschein kam, zeichnet sich durch zahlreiche Beulen oder knotige Auswüchse aus, die besonders an der Stelle bemerklich sind, wo die Blätter hervorsprießen. Ihr Gewebe ist demjenigen ähnlich, welches man bei den jungen von einigen Ustilagineae oder noch eher von Ustilago Zea May hervorgebrachten Mißgestaltungen beobachtet hat. Der mikroskopische Pilz, welcher diese der Wissenschaft bis jetzt unbekannte Krankheit verursacht, wird durch den Namen Oedomyces leproides gekennzeichnet.

Mittels eines Durchschnittes in diesem neuen Gewebe sieht man sehr zahlreiche dunkelfarbige Fleckchen, die von unregelmäßig entwickelten Cysten entstanden, und innerhalb welcher viele kastanienbraunfarbige Sporen vorhanden sind, welche Plasma- und Stärkemehlkörnchen sowie Myceliumfäden enthalten.

Die Cysten bieten einen der vielen wichtigen Fälle pathologischer Zellhypertrophie und sind von einem ungeteilten Häutchen umgeben, welches schichtenweise und aus Cellulose gebildet, eine Dicke von 9 bis sogar 15 μ erreichen kann.

Das Mycelium wurde mittels geeigneter Färbungsvorkehrungen nur im Innern der Cysten gefunden, es sah zart, farblos, fadenartig und durchfließend, dem Capillitium ähnlich, aus.

Mit dem Roten von Rutenio, das zwar mit Javelle-Wasser behandelt wurde, zeigte sich das Mycelium sonderbar gebildet, nämlich wie wenn es mit sehr kleinen stark refraktiven Krusten bedeckt wäre, denjenigen von oxalsaurem Kalk ähnlich. Die Färbung des Myceliums mit dem Roten von Rutenio läßt vermuten, daß Gallerte vorhanden ist, die aus Pektinzusammensetzungen und nicht aus Callose herrührt. Die Sporen entstehen aus dem Mycelium auf zweierlei Weisen: die meisten an der Spitze der Myceliumfäden, doch viele entwickeln sich auch zwischen den Fäden.

Die Sporen sehen fast wie Filzhüte aus, oben ungefähr halbkugelig und unten beim Strunke hohl. Eine doppelte Haut umgiebt den an Oelsubstanzen sehr reichen Inhalt, und innerhalb welcher sich ein Kern befindet.

Das Episporium ist kräftig, glatt, kastanienbraun-farbig, im Javelle-Wasser löslich; dagegen ist das Endosporium schleimig und schwillt bei Anwendung des Javelle-Wassers bedeutend.

Die Diagnose des Pilzes lautet:

Oedomyces Saccardo in Trabut, Sur une Ustilaginée parasite de la Betterave. (Revue generale de Botanique. Tom. VI. 1894. et Compt. Rendus Acad. d. Sciences. 1894.)

Fungus parasiticus tumores crassos, carnosos in partibus vivis plantarum generans. Sporae e globoso dein hemisphaerico-depressae, coloratae, intra cystas crasse tunicatas (quasi cellulas giganteas) sphaeroideo-angulosae conglobatae, in filamentis mycelicis, mox evanescentibus acrogenae et intercalares. — A gen. Entylomate, cui affinis, praecipue differt citis vere singularibus et forma subhemisphaerica sporarum.

Oedomyces leproides Trab. loc. cit.

Entyloma leproideum Trab. Compt. rend. Acad. Scienc. 1894.

Tumoribus crassis, carnosis, colliculosis, initio flavo-virescentibus dein cinereo-fuscis, intus cystis funginis creberrimis refertis; cystis magnis e globoso-angulosis, dimentionibus variis crasse tunicatis, tunica hyalina, homogenea, cellulosica, 9—15 μ cr.; sporis initio globulosis, pallidis, acrogenis et intercalaribus, maturis depresso-hemisphaericis, hic convexis, hinc concaviusculis et medio papillatis, fuligineo-badiis, laevibus, intus pluriguttulatis, nucleatis, 36—48 (med. 42) $\asymp$ 15—21 (medio 19) bitunicatis.

Habitat — in parte superiore radicum Betae vulgaris var. rapaceae — ubi tumores crassos, carnosos, colliculosos gignit — in Algeria. Voglino (Casale).

Frank und **Krüger**, Untersuchungen über den Schorf der Kartoffeln. Mit 1 Tafel. (Zeitschrift für Spiritusindustrie. Jahrg. 1896. Ergänzungsheft I.)

Es ist bekannt, daß der Schorf der Kartoffeln, jene so häufig beobachtete Krankheit, den Wert der Knollen ganz erheblich herabsetzt. Es ist daher seit langem das Bemühen zahlreicher Forscher gewesen, die Ursachen dieses höchst empfindlichen Uebelstandes aufzudecken und Gegenmaßregeln zu ersinnen. Neuerdings haben nun Frank und Krüger Untersuchungen über den Schorf der Kartoffeln angestellt, deren Resultate sie in obengenannter Zeitschrift niedergelegt und durch recht interessante Abbildungen illustriert haben.

Nach den beiden Autoren hat bereits Schacht die Natur des Kartoffelschorfes richtig erkannt, indem er behauptete, daß diese Krankheit ihren Anfang von den Lenticellen der Kartoffelschale nimmt. Die Ansicht J. Kühn's, der die Meinung Schacht's als falsch erklärt hat, bezeichnen sie als irrig; denn er habe den Schorf verwechselt mit einem auf der Oberfläche der Kartoffelknolle mit-

unter sich festsetzenden dunkelpurpurbraunen Pilzgebilde, der Rhizoctonia Solani, was uns allerdings bei dem scharfen Blick Kühn's für derartige Erscheinungen nicht recht wahrscheinlich dünken will. Neuerdings haben einige Autoren parasitäre Organismen für die Entstehung des Schorfes verantwortlich gemacht, so Brunchorst Spongospora Solani, während Bolley und Thaxter gewisse Bakterienformen als die vermeintlichen Urheber isoliert haben.

Ehe Frank und Krüger zur Begriffsbestimmung des Schorfes schreiten, geben sie einen Ueberblick über diejenigen Abnormitäten der Kartoffelschalen, welche nicht zum Schorfe gehören. Hierher rechnen sie das Auftreten von Rhizoctonia Solani Kühn, ferner diejenigen Veränderungen der Kartoffelschale, welche nicht aus einer Erkrankung der Lenticellen hervorgehen, also nach ihrer Ansicht nicht zum Schorfe gehören. Dazu sind zu rechnen die Korkschuppen, die mehr oder weniger über die ganze Kartoffeloberfläche verbreitet sind, und deren Ursache noch unbekannt ist; ferner netzförmige Risse der Schale und endlich das Aufspringen der Kartoffelknollen, wobei die Schale in ihrer ganzen Dicke, samt dem Korkkambium, durch tiefe, bis in das Fleisch der Kartoffel eindringende Sprünge zerreißt.

Der eigentliche Schorf scheint nun regelmäßig von den Lenticellen oder Korkwarzen auszugehen, wie Schacht bereits 1856 angegeben hat. Allerdings ist der Nachweis dafür nicht immer leicht, weil wir die Kartoffelknollen gewöhnlich erst bei der Ernte vor Augen bekommen, wo die Beziehungen zwischen Schorf und Lenticellen nicht ohne weiteres mehr erkennbar sind. Schacht befand sich aber insofern in einer Unklarheit, als er die Lenticellen selbst schon für Schorf hielt, sie also als etwas Abnormes bezeichnete, während doch die Korkwarzen auf jeder Kartoffelschale eine durchaus normale Bildung sind, was Caspary nachgewiesen hat.

Eine genauere Untersuchung des Kartoffelschorfes macht eine Unterscheidung verschiedener Schorfarten unerläßlich. Die Autoren haben daher eine Klassifikation derselben versucht. Sie unterscheiden:

1) Flachschorf, der dadurch wesentlich charakterisiert ist, daß die Schorfstellen weder als eine Vertiefung, noch als eine ausgeprägte Erhabenheit sich darstellen, sondern mit der Schale in gleichem Niveau liegen und nur durch eine besondere Beschaffenheit sich auszeichnen.

2) Tiefschorf. Das Absterben des Gewebes von der Lenticelle aus schreitet rasch von Zelle zu Zelle in das Innere der Knolle vor. Das sich allmählich bildende tote Schorfgewebe schwindet, und es entsteht so mit der Zeit eine Vertiefung.

3) Buckelschorf. Es entstehen hier durch den Reiz, der durch die Zerstörung der Lenticelle auf das darunter liegende stärkemehlhaltige Parenchym ausgeübt wird, Gewebewucherungen, welche für diese Art Schorf besonders charakteristisch sind, und die mehr oder weniger buckelförmig über die Oberfläche der Schale hervorragen.

4) Buckeltiefschorf. Es sind buckelförmige Erhöhungen

wie bei der vorhergehenden Schorfart vorhanden, auf denen aber wieder dem Tiefschorf ähnliche löcherartige Vertiefungen von wechselndem Umfange auftreten.

Allerdings lassen sich in Wirklichkeit diese 4 Schorftypen nicht scharf von einander abgrenzen.

Aus dem Gesagten geht nur hervor, daß der Schorf in einer Erkrankung und einem Absterben des Gewebes der Lenticellen besteht.

Was nun die Ursache des Schorfes betrifft, so sind in neuerer Zeit von verschiedenen Forschern parasitische Pilze als solche genannt worden. So ist von Brunchorst, wie bereits erwähnt, Spongospora Solani als allgemeine Ursache des Schorfes angegeben worden. Die beiden Autoren haben aber festgestellt, daß dieser Pilz keineswegs ein allgemeiner Begleiter des Kartoffelschorfes ist, auch ist er nicht bestimmten Kartoffelsorten eigentümlich. Spongospora Solani ist vielmehr nur ein sekundärer zufälliger Begleiter des Schorfes, der sich in den bereits abgestorbenen Zellen entwickelt.

Bolley glaubt dagegen als die Ursache des Kartoffelschorfes in Nordamerika gewisse Bakterien erkannt zu haben. Nach den Vermutungen der beiden Autoren, welche allerdings amerikanischen Schorf nicht untersuchten, dürfte jedoch hier eine Verwechselung vorliegen.

Schließlich ist noch der Thaxter'sche Fadenpilz zu erwähnen. In Amerika fand Thaxter unabhängig von Bolley an schorfigen Kartoffeln ein Pilzmycelium, welches an den Rändern der jüngeren Schorfflecke als eine grüne Substanz bemerkbar war. Thaxter will auch gesunde Kartoffeln durch Impfung mit dem auf Pepton-Agarkulturen gezüchteten Pilze schorfig gemacht haben.

Auch die beiden Autoren fanden häufig zwischen den lockeren, abgestorbenen Zellen des Schorfes Pilzmycelien von Hyphomyceten, jedoch niemals drangen sie in das noch lebende Gewebe ein.

Die beiden Forscher haben nun Versuche angestellt, um zu entscheiden, ob es bei der Benutzung von typisch kranken Knollen gelänge, an den neuen Knollen denselben Schorf zu erzeugen, und ob, falls dies möglich, das Auftreten dieser Schorfarten an den Tochterknollen durch Sterilisation des Saatknollens verhindert werden könne.

Das Ergebnis der von den Autoren angestellten Versuche, betreffs deren Anordnung wir auf das Original verweisen müssen, war kurz folgendes: Gesunde Knollen wurden erzeugt, wenn die Erde sterilisiert war. Das Vorhandensein oder Fehlen der verschiedenen Mergel im Boden war für das Auftreten oder Ausbleiben von Schorf bedeutungslos. Dasselbe galt vom Saatgut; ob es schorfig oder gesund angewandt wurde, war bezüglich der Schorfneubildung gleichgiltig. Nach diesen Versuchen scheint es also mehr als wahrscheinlich, daß organisierte Wesen, die von außen auf die Knolle einwirken, bei der Schorfbildung von der allergrößten Bedeutung sind. Wenn man dies annimmt, so müßte der Boden, in dem diese Organismen leben, auch noch auf andere Weise als durch Anwendung von Hitze von ihnen befreit werden können. Und in der That ist es den beiden Forschern gelungen, durch Imprägnierung der Erde mit Petroleum eine vollständig schorffreie und durch eine solche mit Karbolsäure eine fast schorffreie Kartoffelernte zu erzielen. Die

Schorfbildung erheblich herabzumindern, wurde auch erreicht durch eine 24-stündige Beizung der Saatknollen in 2-proz. Kupferkalkbrühe und sofortiges Auslegen der Knollen, welche vorher nur oberflächlich abgewaschen wurden. Bruhne (Friedenau-Berlin).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

DR. WILHELM WINDISCH.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Kornauth, Karl, Ueber das Verhalten pathogener Bakterien in lebenden Pflanzengeweben. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XIX. 1896. No. 21. p. 801.)

Railliet, A., Quelques rectifications à la nomenclature des parasites. (Recueil de méd. vétérin. 1896. No. 5. p. 157—161.)

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

d'Arsonval et Charrin, Action des courants à hautes fréquence sur les toxines bactériennes. (Compt. rend. T. CXXII. 1896. No. 6. p. 280—283.)

Bonhoff, Untersuchungen über Vibrionen und Spirillen. I. Vorl. Mitteilung. (Hygien. Rundschau. 1896. No. 8. p. 351—356.)

Brefeld, O., Der Reis-Brand und der Setaria-Brand, die Entwickelungsglieder neuer Mutterkornpilze. (Bot. Centralbl. 1896. No. 4. p. 97—108.)

Löwit, M., Zur Morphologie der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XIX. 1896. No. 18/19. p. 673.)

Mendelson, M. E., Zur Biologie einzelligr Organismen. (Journ. ochranenija narodnawo sdrawija. Bd. VI. 1896. p. 113.)

Scheurlen, Geschichtliche und experimentelle Studien über den Prodigiosus. Arch. f. Hygiene. Bd. XXVI. 1896. Heft 1. p. 1—31.)

Welch, W. H. and Flexner, S., Observations concerning the bacillus aerogenes capsulatus. (Journ. of experim. med. Vol. I. 1896. No. 1. p. 5—45.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Adenay, W. E., Fermentative changes in water. (Trans. Royal Dublin Society. V. 1896. part 11.)

Bourquelot, E., Sur l'hydrolyse du raffinose (mélitose) par l'Aspergillus niger. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1896. No. 7. p. 205—207.)

Grimbert, L., Action du pneumobacille de Friedlaender sur la xylose l'arabinose. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1896. No. 6. p. 191—192.)

— —, Coli-bacille produisant de l'acide succinique avec le lactose. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1896. No. 6. p. 192—193.)

Seyffert, H., Einiges über Reinzuchthefen und ihre Ernährung. [Mitteilung aus dem Laboratorium der Kalinkin-Brauerei, St. Petersburg.] (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Jahrg. XIX. 1896. No. 23. p. 318.)

Molkerei.

Mc' Intyre, B. F., Improvements in process of and apparatus for condensing and preserving milk. (Journ. soc. chem. Ind. Bd. XIV. 1895. No. 10. p. 880.)

de Schweinitz, E. A., The pasteurization and sterilization of milk. (U. S. Dept. Agr. Yearbook. 1894. p. 331—356. with 28 figs.)

Prefshefefabrikation.

Krissander, Das Melassehefemaischverfahren. (Alkohol. Jahrg. VI. 1896. No. 2. p. 339.)

Laboschin, Die Hefenregeneration. (Alkohol. Jahrg. VI. 1896. No. 22. p. 337.)

Nitrifikation.

Ewell, E. E. and **Wiley, H. W.**, The effect of acidity on the development of the nitrifiing organisms. (The Journ. of the American Chemical Society. Vol. XVIII. 1896. No. 6. p. 475.)

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Alt, K., Durchfall bei Kindern nach Genuß der Milch von Kühen, die mit „befallenem" Klee gefüttert waren. (Dtsche med. Wchschr. 1896. No. 5.)

Fiorentini, A., Ricerche sperimentali sul latte che si consuma in Milano, fatte in rapporto all' igiene alimentare. (Giorn. d. r. soc. ital. d'igiene. 1896. No. 2. p. 62—66.)

Morot, Ch., De la stérilisation par la chaleur des viandes d'animaux tuberculeux. Conservation prolongée des viandes ainsi stérilisées, mise à la portée des simples particuliers, et notamment des cultivateurs. (Recueil de méd. vétérin. 1896. No. 4. p. 105—109.)

Rodet, A., Un appareil pour la stérilisation du lait par la méthode de Soxhlet. (Lyon méd. 1896. No. 11. p. 359—363.)

Russell, H. L., Typhoïd fever disseminated through the milk supply. (Science. 1895. p. 682—683.)

Wasser.

Demuth, Ueber den gegenwärtigen Stand der hygienischen Beurteilung von Trink- und Nutzwasser. (Vereinsbl. d. pfälz. Aerzte. 1896. No. 2. p. 32—41.)

Neumann, O. u. **Orth, E.**, Versuche zum Nachweis choleraähnlicher Vibrionen in Flußläufen. (Ztschr. f. Hygiene. Bd. XIX. 1896. p. 363.)

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Barrett, C. G., An unexpected apricot pest. (Ent. Monthly. 1895. May. p. 278.)

Begonia disease. (Kew Misc. Bull. 1895. No. 107. p. 285—286.)

Blavia, A., The Phylloxera in Europe. (Agl. Gaz. N. S. Wales. Bd. VI. 1895. No. 10. p. 690—692.)

Campbell, J. R., Club-root experiments. (Bd. Agr. Rpt. Distrib. Grants for Agl. Education in Great Britain 1894—95. p. 104—107.)

Chittenden, F. H., The more important insects injurious to stored grain. (U. S. Dept. Agr. Yearbook. 1894. p. 277—294. with 9 figs.)

Cobb, N. A., The cause of gumming in sugar cane. (Agl. Gaz. N. S. Wales. Bd. VI. 1895. No. 10. p. 683—689. With 2 figs.)

Cockerell, T. D. A., Injurious insects. (Southwestern Farm and Orchard. 1895. Sept. p. 11—12. Okt. p. 4—5.)

— —, The grape vine typhlocybids of the Mesilla Valley. (Supp. to Psyche. 1895. Dec. p. 14.)

— —, A new species of Coccidae of the genus Diaspis. (Act. soc. sci. Chile. Bd. V. 1895. p. 6—7.)

— —, Notes on the geographical distribution of scale insects. (Proc. U. S. Nat. Museum. Bd. XVII. 1895. p. 615—625.)

Dalmeida, V. u. **Prego, J.**, Diseases of the vine in Portugal during 1894. (Ann. sci. Agron. ser. 2, 2. 1894/95. No. 1. p. 140—153.)

Hollrung, M., Die Rüsselkäfer-Kalamität in den Luzerne- und Rübenfeldern. (Der Landwirt. Jahrg. XXXII. 1896. No. 48. p. 284.)

Howard, L. O., Some scale insects of the orchard. (U. S. Dept. Agr. Yearbook. 1894. p. 249—276. With 17 figs.)

Leaf curl of peach trees. (Mechan's Monthly. Bd. VI. 1896. No. 1. p. 14.)

Marlatt, C. L., The Hessian fly. (U. S. Dept. Agr. Division of Entomology. Circ. 12. 1896. p. 4.)

Massee, G., The spot disease of orchids. (Ann. Bot. Bd. XIX. 1895. No. 35. p. 421—429. With 1 pl.)

Molliard, M., Studies of floralgalls. (Ann. sci. Nat. Bot. ser. 8, 1. [1895.] No. 1. p. 67—80. No. 2—4. p. 81—245. With 12 pls.)

Peck, C. H., New species of fungi. (Torrey Bull. Bd. XXII. 1895. No. 12. p. 485—493.)

Die Reblaus, Phylloxera vastatrix Pl. (Dtsche landwirtschaftl. Presse. Jahrg. XXIII. 1896. No. 45. p. 396.)

Rolfs, P. H., The San José scale. (Florida Sta. Bull. Bd. XXIX. 1896. p. 90—111. With 4 figs.)

Slingerland, M. V., The plum-twig gall mite. (Canadian Ent. Bd. XXVII. 1895. No. 12. p. 329—333. With 1 pl.)
Smith, J. B., The Hessian fly. (New Yersey Stas. Bull. Bd. CX. 1896. p. 8. With 2 figs.)
Soppitt, H. T., A remarkable Puccinia. (Gard. Chron. ser. 3, 18. 1895. No. 470. p. 773.)
Swingle, W. T., Grain smuts, their cause and prevention. (U. S. Dept. Agr. Yearbook. 1894. p. 409—420. With 20 figs.)
Watt, Tea pests and remedies. (Indian Agr. Bd. XX. 1895. No. 12. p. 384.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Bujard, A., Gefäße zur Entnahme von Wasserproben für bakteriologische Zwecke. (Forsch.-Ber. über Lebensmittel und ihre Beziehung zur Hygiene etc. Bd. III. 1896. p. 132—133.)
Melnikow-Raswedenkow, M., Ueber die Einstellung des d'Arsonval'schen Thermostaten. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XIX. 1896. No. 18/19. p. 709.)
Remlinger, P., Les cils vibratiles des bactéries; les divers moyens de les mettre en evidence. (Gaz. d. hôpitaux. 1896. No. 3. p. 21—24.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Bosc, F.-J., Essais de désinfection par les vapeurs de formaldéhyde. (Ann. de l'Instit. Pasteur. T. X. Année X. 1896. No. 5. p. 298.)
Britton, W. E., Spraying by steam power. (Garden and Forest. Bd. VIII. 1895. p. 407—498.)
Kofend, A., Ueber Katgutsterilisation. (Wien. klin. Wchschr. 1896. No. 11. p. 188—189.)
Lambert, Ch., De la stérilisation des viandes. (Bullet. de la soc. r. de méd. publ. d. royaume de Belgique. Vol. XIII. 1896. fasc. 4. p. XLIX—LXIII.)
Mason, T. R., Improvements in and connected with the sterilization and preservation of milk, cream, and other fluids. (Journ. soc. chem. Ind. Bd. XIV. 1895. No. 10. p. 880.)
Roux, G. et **Trillat, A.**, Essais de désinfection par les vapeurs de formaldéhyde. (Ann. de l'Instit. Pasteur. T. X. Année X. 1896. No. 5. p. 283.)
Schütz, H., Vergleichende Untersuchungen über einige Kresolpräparate mit besonderer Berücksichtigung des Metakresols. (Hygien. Rundschau. 1896. No. 7. p. 289—303.)
Strehl, Hans, Beiträge zur Desinfektionskraft des Formalins. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. I. Abt. Bd. XIX. 1896. No. 20. p. 785.)
Walter, K., Zur Bedeutung des Formaldehyds als Desinfektionsmittel. (Ztschr. f. Hygiene. Bd. XXI. 1896. p. 421.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Prof. Dr. M. W. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg
herausgegeben von
Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

II. Band. Jena, den 15. Juli 1896. **No. 13.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige ***Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original-Mittheilungen.

The Relation of Pure Cultures to the Acid, Flavor and Aroma of Butter.

By

Prof. **H. W. Conn**, Wesleyan University, Middletown, Ct., U.S.A.

The use of pure cultures of bacteria in cream ripening or souring has become such a well recognized advantage to the creamery industry that no further defense is needed in its favor. Already quite a number of pure cultures and especially prepared ferments are on the market and are becoming daily more and more widely used. But in spite of this fact and in spite of the increasing familiarity with these pure

cultures and their use, many factors in cream ripening remain to be solved. As yet we are in great ignorance as to the relation of the acid, the flavor and the aroma of the butter. Most pure cultures in use are lactic cultures, producing at the same time with the flavor which they develop a considerable quantity of lactic acid which of course sours the cream. One of them, however is not a distinctly acid organism or at least produces only a small amount of acid. These pure cultures when properly used in cream ripening quite generally improve the flavor of the butter, but, so far as I know, no claim is made for any of them that it improves the aroma or can develop the typical aroma of a high class butter. The fact that these cultures are mostly acid bacteria has led to the general assumption that flavor and acid are very closely associated and that a pure culture, to produce a proper flavor, must at the same time sour the cream. The very term "cream souring" in common use, conveys to most butter makers the belief that souring and flavor production are identical or at least necessarily closely connected. The idea was advanced by myself sometime ago that the flavor is really quite distinct from the acid and produced by an entirely different set of chemical changes. Hence I have assumed that a flavor producing organism need not necessarily be an acid producing organism. As to aroma we know almost nothing. While we recognize that it must be a product of bacterial growth in the cream no experiments have yet pointed out to what class of bacteria it is due. These are some of the questions which still remain for solution, for our knowledge of the relation of flavor acid and aroma is in a very unsatisfactory condition in spite of the many practical results in the use of pure cultures in cream ripening.

The variety of bacteria in the cream of our dairies and creameries is very great. I have myself found nearly 150 different types of bacteria which are at least distinct enough to show differences in some important respect. I have believed that the questions outlined above can only be settled by experiments with a large number of the species of bacteria found in our creameries. To this task I have set myself, and for over two years have been carrying on experiments with the purpose in mind of finding out as fully as possible the relation of the ordinary dairy bacteria to these three factors. Some of the results have already been published. The experiments of the last year have been especially interesting, and certainly point out factors in these problems hitherto not recognized and which promise to lead toward a proper solution. The details of these experiments will be published later but, the general results are of such interest as to deserve a preliminary notice.

During the last year the experiments in butter making have been carried out with 55 different species or varieties of bacteria. These have been obtained from first class creameries and dairies and all therefore dairy bacteria. Most of them were obtained during the months of June and July when the finest butter is commonly made. In most cases they were obtained from the ripening cream in the cream vat and may therefore be regarded as representatives of the

types of bacteria which ordinarily ripen cream in creameries. Among them are examples of all the general types of milk bacteria. There are some which curdle the milk by producing acid, some which produce acid without curdling the milk, some which render the milk alkaline but curdle it by the formation of a rennet ferment, while others produce no visible effect upon the milk. There were among the 55 more of those which did not appear to have any visible effect on milk than any of the other types. The general characters of this 55 species, therefore, illustrates very well the general types of milk bacteria which may be expected in the creameries of this vacinity.

The experiments in cream ripening were performed as follows. A lot of milk was passed through a separator and the cream divided into four equal parts. These were placed in separate vessels and at once pasteurized at a temperature of 69° to 70° C for ten to fifteen minutes. After cooling three of them were inoculated with a culture of bacteria, each being inoculated with a different species. The fourth lot was left as a control. The cultures used for inoculation were milk cultures in which the bacteria had been growing for two days, and were added to the cream in proportions of about one to fifteen. The four lots of cream were placed under similar conditions and at the same temperature and allowed to ripen the same length of time. Then all were churned and the butter made from the four lots was compared together. In this comparison the butter was usually examined without salt, since salt is sure to obscure the flavors slightly. Note was taken of the flavor, the acid and the aroma, and the records of these three factors were kept as accurately as possible. Where possible the flavors and odors were described, but commonly it was impossible to find any words that would properly describe them and it was necessary to describe them simply as good or bad. The same experiment was repeated the next day and also upon the third day. If all three experiments agreed accurately a second set of three species was substituted. If however there was any lack of uniformity in the results or any reason for questioning them, the same species were continued in the experiments until uniformity resulted. All of the 55 species were thus tested until I was able to state with certainty what affect each produces on the butter if used in ripening the cream after pasteurization.

Comparison of control and inoculated cream.

The first point of interest to be noted was the result of comparing the control lot of cream after ripening with the inoculated lots. Pasteurization as is well known, does not destroy all the bacteria present in the cream and in the ripening which followed, which for certain reasons was usually rather long, the bacteria left in the control had a chance to grow. As a result the control cream after the ripening period frequently showed their affects. Sometimes it would be decidedly thick and slightly curdled, though never acid, thus showing that while the lactic organisms had mostly been killed by the heat, the rennet forming species had some of them resisted

the heat. Sometimes the control cream would develop a faint although decided bitter taste. This bitter taste was quite perceptable in the cream although never appeared to be sufficient to influence the butter made from the cream. These results in the inoculated cream were not surprising because of the fact that pasteurization leaves in the cream some of the rennet forming and peptonizing class of bacteria. The surprising result was that upon the same day when these affects were noticed in the control, in no single instance were similar results noticed in the inoculated lots of cream. When the control cream was bitter the inoculated cream was not bitter unless it chanced that the inoculated species made it bitter. When the control cream was thick and curdled the inoculated lots were perfectly thin unless it chanced that the inoculated bacteria curdled them. In other words the inoculated cream appeared to be affected by the inoculated species alone and the bacteria left after pasteurization had no noticeable effect upon it. When for instance the inoculated cream were inoculated with bacteria which had no visible effect upon it either to curdle or effect its taste, it was surprising to find that the controle would perhaps become partly thick and slightly bitter, while the three inoculated lots would remain thin and sweet and, so far as appearances went, like fresh cream. At another time, when different species were used, it would be found perhaps that the lot which showed the least signs of ripening would be one receiving a large inoculation of a species of bacteria which appeared in preliminary tests to have no effect upon it, the control being decidedly more curdled and more changed in taste than the test cream. At the same time others of the test lots would be decidedly effected by an inoculated species of a different character. The explanation of these facts must of course be that the growth of the inoculated bacteria checked the growth of the bacteria left in the cream and thus prevented them from producing the curdling and bitter taste which they did produce in the control where they were unimpeeded by the inoculated species. This result was not found in any single case but in many instances, so that it came to be regarded as a normal result. Its practical bearing upon dairy matters is considerable since it shows that the inoculation of cream with a superabundance of one species of bacteria may check the growth of the bacteria already present. "Starters" may perhaps therefore be used with advantage without any previous treatment of the cream since they may in a measure counteract the effect of the bacteria already in the cream.

The majority of species favorable to cream ripening.

A very considerable majority of the 55 species would be considered as favorable to cream ripening. Not all of them produce any positive good effect but a large number produce no noticeable influence upon the butter, and their presence is therefore in perfect harmony with good butter.

Flavor and Acid.

A study of the relation of flavor and acid has brought out some interesting results. Among the 55 species tested this last year 14 have been described in my laboratory notes as producing good flavors. The flavors are not all alike and not all typical butter flavors, but they were in all cases so near to the typical butter flavor that butter possessing them would be called good butter. Of the 14 species eight were among the acid producing class, while six were among the class which either produce an alkaline reaction or produce no effect on milk so far as reaction is concerned. Two of the six liquified gelatine while the others did not. These figures show that the acid producing bacteria are more likely to produce good flavors than other classes. The probability is greater than indicated by the numbers 8 and 6. The eight favorable acid species were found among some 18 acid species of bacteria, while the six were the only ones among some 35 species which failed to produce acid but did produce good flavors. Finding therefore among eighteen acid species eight which produce good flavors, while among 35 species which fail to produce acid only six produced good flavors, shows that the desirable flavor is more liable to be produced by the acid organisms. This has been generally assumed to be the case. At the same time decidedly good flavors have been found among bacteria which produce an alkaline reaction in milk, and this is contrary to the general belief.

Among the 55 species, 9 have been described in my laboratory notes as producing *bad* flavors. Here again the bad flavors were not all alike. Sometimes the butter was bitter, sometimes too sour, and more frequently had a bad but indescribable tate. Of these nine species six belonged to the acid producing class, while three gave an alkaline reaction.

It would appear then, that, so far as these experiments are concerned, the acid producing species of bacteria are more likely to give rise to flavors of marked character than the species of bacteria which fail to produce acid. Out of the 18 species of acid producing organisms 14 produced more or less pronounced flavors. But these flavors were unpleasant ones in six out of the 14 cases, so that good flavor and acid production are by no means identical. Further in not a few cases good flavors have been produced by bacteria which do not develop any acid.

Aroma.

In regard to the butter aroma some curious and unexpected results appeared. In the first place was found to be a much more uncommon thing for bacteria to to produce any pronounced affect on the aroma than on the flavor. Most of the species of bacteria which produced a decided flavor had no affect upon the aroma. When the cream was ripened with them the butter would develop a fine flavor but would be almost without aroma, or would show no

more aroma than the butter made from the control cream. With other species the flavor would be good but the aroma would be unpleasant. Among the 55 species experimented with, 15 have been described in my laboratory notes as producing an affect on the aroma. Of this number 9 have been described as producing unpleasant aromas. The aroma was quite varied in the cases but poor in all. The surprising fact was that, leaving out two or three cases of a putrefactive odor due to over ripening, all of the instances of decidedly unpleasant odors were produced by acid producing bacteria. This was a decided surprise to me. I had expected that the acid bacteria would be the aroma producing class and had not expected to find them so commonly producing unpleasant aroma. It was only after all the experiments were completed and the results were compared that is was found that nearly all of the lots of butter which had been described as possessing a poor aroma were ripened by acid producing organisms.

On the other hand six of the species tested have been described in my notes as producing a good aroma. After finishing the tests and collecting together the facts it appeared that each of these six were species which either produced an alkine reaction in the milk or did not affect the reaction. None of them were acid producers. Of the six there were only two which produced what appeared to me to be the typical and especially desired butter aroma which characterizes a high quality of butter. The other four were good but not typical butter aromas. These two species produced an alkaline reaction in milk, one of them curdling the milk by forming rennet, and both liquefying gelatine and peptonizing the milk. They both therefore belonged to the so called decomposition bacteria and produced their action upon the albumens rather than the milk sugar of the milk. This fact was entirely unexpected, for I had certainly expected that the proper butter aroma would be found to be produced by the lactic acid bacteria. But it has certainly appeared from these experiments that the aroma is the result of albuminous decomposition rather than the effect of bacteria upon milk sugar.

It was further found that none of the species studied had the power of producing all three effects. Some gave flavor and acid but no aroma. Some gave aroma without flavor or acid, some flavor without acid, but with a tolerably good aroma, but no species thus far tested produces good flavor and aroma and acid. In general the good aroma producing species did not give a good flavor.

It is perhaps hardly justifiable to draw any general conclusions from experiments with 55 species when we recognize that the dairy is supplied with such a large number. But so far as any conclusion can be drawn from them they may at least be suggestive. The conclusions which I would draw from the experiments referred to are as follows:

1) The inoculation of cream with a large culture of one kind of bacteria has a checking influence upon others present, even though the cream may be impregnated with other bacteria at the start. A pure culture starter of this sort may therefore be of decided value

not only in developing its own flavor but in preventing the growth of injurious flavors.

2) Flavor, acid and aroma appear to be independent of each other, and each is a product of bacterial growth. Some dairy bacteria produce some of these desired qualities and others produce others. None thus far found produce all three.

3) Flavor is more likely to be found as a product of the growth of acid organisms than those which produce an alkaline reaction in milk, but good flavors may be found in cream ripened with bacteria which produce no acid. The flavor is probably not the result of the decomposition of the milk sugar.

4) Aroma is entirely independent of flavor. The acid producing organisms do not appear to produce the desired butter aroma. These aromas are however produced by the bacteria which peptonize milk and the aroma is therefore probably due to certain volatile products of albuminous decomposition.

Middletown, May 15, 1896.

Zur Mikrobiologie des Nitrifikationsprozesses.

Von

Prof. Dr. S. Winogradsky

in

St. Petersburg.

In meinen „Untersuchungen über die Organismen der Nitrifikation“, welche im Laufe von drei Jahren (1890—1893) in den Annales Pasteur und Archives des sciences biologiques (herausgegeben vom Kais. Instit. für experimentelle Medizin in Petersburg) erschienen sind, bemühte ich mich, die Frage über die Ursachen der Nitrifikation und die Eigenschaften der dieselbe bewirkenden Mikroben möglichst vielseitig zu beleuchten. Mein Zweck war es, zuerst die wichtigsten Thatsachen festzustellen, was aber die verschiedenen Details und die lange Reihe der den grundlegenden Thatsachen entspringenden untergeordneten Fragen betrifft, so beabsichtigte ich, sie später zum Gegenstande einer ausführlichen Bearbeitung zu machen. Dem entsprach auch die Darstellung dieser 6 Abhandlungen, welche meistens eine kurze und gedrängte war. Nur in einer Beziehung, scheint es mir, habe ich alle nötigen Details mitgeteilt, nämlich die die angewandten Untersuchungsmethoden betreffend, selbstverständlich mit der Absicht, die Wiederholung meiner Versuche und die Teilnahme an der Bearbeitung der Nitrifikationsfrage seitens anderer Forscher möglichst zu erleichtern.

Wenn also mein Vorsatz, nach Lösung der Hauptaufgabe die Bearbeitung der Einzelheiten sofort in Angriff zu nehmen, wie oft, nicht zur Erfüllung gebracht wurde, und ich durch andere Arbeiten

abgelenkt, meine Nitrifikationsstudien ganz eingestellt habe, so schien mir doch die Hoffnung berechtigt, daß auf dem geebneten Wege bald andere Forscher folgen und die noch bestehenden Lücken bald ausfüllen würden. Die vergangenen 2—3 Jahre haben indeß keine wesentlichen Beiträge zu der uns interessierenden Frage gebracht. In letzter Zeit aber sind einige Arbeiten erschienen, welche mich bewegen, die Frage wieder aufzunehmen, um einige frühere Beobachtungen zu wiederholen und zu ergänzen.

In erster Linie waren auf dem Gebiete Dr. Burri und Prof. Stutzer thätig, und werden wir uns heute mit den von ihnen erlangten Resultaten, speziell mit ihrer im Oktober-Heft dieses Blattes erschienenen gemeinsamen Abhandlung: „Ueber einen auf Nährgelatine gedeihenden nitratbildenden Bacillus“ beschäftigen.

Burri und Stutzer haben sich in dankenswerter Weise die Aufgabe gestellt, meine Untersuchungen nachzuprüfen, ehe diese Nachprüfung aber zum Abschluß gediehen ist, haben diese Forscher an einem nitratbildenden Bacillus so „mannigfache wesentliche Differenzen“ zwischen unseren respektiven Versuchsergebnissen konstatiert, daß eine möglichst beförderliche Veröffentlichung ihrer Resultate als erwünscht erschien.

Sehen wir, worin diese Differenzen bestehen.

Erstens fällt es beim Durchlesen der Abhandlung sofort auf, daß die Isolierung des Nitratbildners aus der Erdprobe von Northeim a. d. L. unseren Autoren große Mühe und mehrere Mißerfolge gekostet hat, trotzdem daß sie anscheinend streng meinen Weisungen folgten; diese Mißerfolge hatten hauptsächlich darin ihren Grund, daß die Bonner Forscher in ihren Isolierungsversuchen mit Hilfe der Kieselgallerte lange Zeit auf die Kolonieen des Nitratbildners nicht treffen konnten, trotzdem er auf den Platten wuchs und seine Anwesenheit durch lebhafte Oxydationsarbeit kundgab. Freilich hatte Stutzer und Burri mit einer anderen Erdprobe zu thun, welche möglicherweise für die Isolierung ungünstigere Bakteriengemische enthielt, als dies bei mir früher der Fall war; ich kann aber die Bemerkung nicht unterdrücken, daß, wenn unsere Forscher die Kolonieen des Nitratbildners auf ihren Platten rechtzeitig erkannt und glücklicher abgeimpft hätten, was keineswegs so große Schwierigkeiten bietet, ihnen die erwähnten Mißerfolge leicht erspart geblieben sein würden.

Nachdem es Burri und Stutzer schließlich gelungen war, den Nitratbildner rein zu züchten, stellte es sich heraus, daß er andere Eigenschaften besitzt, als dieses nach meinen Untersuchungen sich hätte erwarten lassen: er zeigte nämlich relativ üppiges Wachstum in „organischen Nährböden“, Nährbouillon und Gelatine, mit Verflüssigung der letzteren. Die Eigentümlichkeit aber, auf organischen Nährböden nicht zu gedeihen, wurde von mir, meinen die Autoren, als gemeinsames Charakteristicum der nitrit- und nitratbildenden Bakterien hingestellt. Eine noch mehr unerwartete Entdeckung wird weiter mitgeteilt. Unsere Forscher fanden, daß die Oxydation von Nitriten eine äußerst labile Funktion ist. Es genügt, den betreffenden Organismus Bouillon oder Gelatine ein einziges Mal

passieren zu lassen, um dieses Vermögen ihm ganz zu rauben[1]); auch Zusatz von Bouillon zu der Nitritlösung und überhaupt jede Abweichung von der Kultur in rein mineralischer Nährlösung führt sofort zum Verluste der Oxydationsfähigkeit und, wie es scheint, auch der Fähigkeit, sich im letzten Substrate zu entwickeln. In scharfem Gegensatze damit steht die Schnelligkeit und Leichtigkeit, mit der die Anpassung an albuminartige Stoffe enthaltende Medien erfolgt: nach Impfung aus rein mineralischen Medien zeigt das Bakterium sofort ergiebiges Wachstum und „weiß ebenso gut Albumine und Peptone zu verwerten wie hundert andere Arten.“ „Die Oxydation der Nitrite bildet nur eine Energiequelle, welche sich der Bacillus ... bei Mangel an stickstoffhaltigen Verbindungen erschließen kann.“

Das sind natürlich keine Erklärungen, und finden wir überhaupt seitens der Autoren keinen Versuch, in diese merkwürdigen Verhältnisse näher einzugehen. Wenn beide Wachstumsweisen dem Nitratbildner eigen sind, warum zeigt er sich nach kurzem Wachstum in Bouillon als ganz unfähig, in rein mineralischem Medium Nitrite zu oxydieren? Kräftig ernährt, müßte er ja recht fähig sein, „diese Energiequelle sich zu erschließen“. Tritt etwa so rasch Umzüchtung, Rassenbildung ein? Oder wird die Oxydationsarbeit vom Organismus nur in einem ganz besonderen, vielleicht pathologischen Zustande vollbracht? Diese und ähnliche Fragen haben unsere Autoren nicht gestellt und scheinen uns überhaupt die Eigenartigkeit ihrer Angaben nicht gebührend zu würdigen. Sollten sie sich bestätigen, so hätten wir erstens den Beweis, daß das Nitrifikationsvermögen kein streng spezifisches ist, und zweitens ein höchst interessantes Beispiel von der Wandelbarkeit der Funktionen bei den Bakterien.

Leider aber, möchten wir gleich bemerken, weist die Geschichte der Nitrifikation schon einige Entdeckungen ganz derselben Art, die sich nicht bestätigt haben und die wir heute mit Schweigen übergehen werden, auf. Es war mir auch die Deutung der oben erwähnten Angaben, welche durch ihre Gründlichkeit und Ausführlichkeit den mit der Sache nicht näher Vertrauten wohl imponieren könnten, keinen Augenblick zweifelhaft. Es war mir nur die Hartnäckigkeit, mit welcher sich gewisse alte Fehler wiederholen, auch jetzt, wo die neueren Untersuchungen doch etwas Licht über dieses Gebiet verbreitet haben, etwas unerwartet.

Sobald ich mit dem Inhalte der Abhandlung von Burri und Stutzer vertraut wurde, wandte ich mich brieflich an Herrn Prof. A. Stutzer in Bonn mit der Bitte, mir etwas von seinem reinen Material zusenden zu wollen, und fügte dabei in einem längeren Briefe einige Erklärungen und kritische Bemerkungen hinzu: „ich bin geneigt, schrieb ich, Ihre Beobachtungen anders zu deuten, als Sie das gethan. Ja, ich wage die Vermutung auszusprechen, daß

1) Nur ausnahmsweise und nur zweimal ist es Burri und Stutzer gelungen, Nitratbildung nach Rückimpfung aus Bouillon und Gelatine in mineralische Lösung zu erzielen. Beim näheren Nachsehen müssen wir dennoch diese zwei Fälle ganz ausschließen; denn in beiden waren Bouillon- resp. Gelatineröhrchen, die das Material geliefert, direkt aus nitrifizierter Kieselgallerte eingeimpft, die den spezifischen Organismus zwischen fremdem Wachstum selbstverständlich enthalten konnte.

Ihr Nitratbakterium noch ein Gemisch von zwei Species vorstellt, und daß, wenn Sie die Reinigung noch einen Schritt weiter fortsetzen werden, Sie zu einem Bakterium, das Bouillon und Gelatine unverändert läßt, kommen werden . . . Täuschung ist außerordentlich leicht auf diesem schwierigen Gebiete und kann dem geschicktesten Beobachter passieren“ . . . u. s. w.

Meinem Wunsche nach Zusendung von Material wurde von Seite von Prof. Stutzer in bereitwilligster Weise entsprochen, wofür ich ihm an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank ausspreche. Anfang Dezember 1895 erhielt ich ein zugeschmolzenes Röhrchen mit etwa 5 ccm einer Reinkultur in mineralischer nitrithaltiger Nährlösung; was die Gelatinekulturen betrifft, so entschuldigte sich Prof. Stutzer, dieselben nicht senden zu können, weil die vorrätigen Kulturen mehrere Monate alt seien; nach Ueberimpfung werde er mir etwas davon zukommen lassen.

Das Röhrchen habe ich unter den üblichen Kautelen geöffnet, den Inhalt mittels einer sterilisierten Pipette in ein sterilisiertes Pasteur'sches Kölbchen übergeführt, daraus mit einer Platinöse einige Nitritlösung- und Bouillonkulturen geimpft und seitdem dieses Stammkölbchen mit dem Originalmaterial von Stutzer und Burri, ohne es wieder aufzumachen, an kühlem Orte bis heute aufbewahrt.

Bevor ich nun zur Schilderung meiner Untersuchungen übergehe, möchte ich der so wichtigen Frage über die Rolle der organischen Substanzen bei der Nitrifikation einige Bemerkungen widmen. Manche Fehler und Mißverständnisse haben sich schon um diese Frage gehäuft, sie bildet auch jetzt eigentlich den Kernpunkt, um welchen sich die gegenwärtige Kontroverse dreht. Burri und Stutzer schreiben mir eine Behauptung zu, welche ich bis jetzt in der gegebenen Form nicht ausgesprochen habe, nämlich, daß die Eigenschaft, auf „organischen Nährböden“ nicht zu gedeihen, als ein gemeinsames Merkmal aller nitrifizierenden Organismen zu betrachten sei. In dieser summarischen Form scheint mir dieser Ausspruch nur wenig Inhalt zu haben. Will man nur so ganz allgemein über die Beziehungen der organischen Substanz zu den Nitrobakterien sprechen, ohne die Qualität und Quantität dieser Substanz und die verschiedenartigsten, besonders biologischen Bedingungen der Fermentationsprozesse zu berücksichtigen, so wäre die gegenteilige Annahme eher die richtige. Denn bekanntlich liefern ja organische stickstoffreiche Substanzen eigentlich das Material, auf dessen Kosten die Salpeterbildung in der Natur sich vollzieht; und es ist ja die allgemeine Erfahrung, daß die energischste Nitrification in solchen Substraten wie Stallmist oder durch Abwässer stark gedüngter Boden, welche gewissermaßen auch als „organische Nährböden“ zu bezeichnen sind, vor sich geht. Die ganze Frage ist kompliziert und wohl einer vielseitigen Beleuchtung wert; sie zerfällt in folgende Hauptaufgaben, welche schon längst in meinem Programm stehen, aber bis jetzt auf ihre endgiltige Lösung noch warten:

1) Sind die nitrifizierenden Mikroben, die nitrit- wie nitratbildenden, fähig, organische, speziell stickstoffhaltige Substanz zu benutzen, d. i. zu zerlegen, indem sie den Stickstoff als Ammoniak

abspalten, um ihn darauf zu salpetriger- resp. Salpetersäure zu oxydieren?

2) Sind dieselben Mikroben fähig, organische stickstofffreie Substanz — Kohlenhydrate, organische Säuren u. s. w. — unter irgend welchen Bedingungen zu vergären?

3) Wenn diese Mikroben sich der organischen stickstoffhaltigen wie freien Substanz gegenüber als inaktiv erweisen, so entsteht die weitere Frage, ob die Anwesenheit der betreffenden Substanz für die indifferent sei, oder auf sie schädlich, entwickelungshemmend einwirke. Diese Wirkung, wenn vorhanden, scheint mir interessant genug, um eingehend studiert zu werden: speziell sind es die stickstoffhaltigen, etwa albuminartigen Stoffe, die besonders hemmend einwirken, oder die stickstofffreien?

Um an diesen Aufgaben zu arbeiten, bedarf man selbstverständlich ganz einwandsfreier absoluter Reinkulturen. Will man über das positive Resultat nur nach kulturellen Merkmalen — Trübung, Hautbildung, Gasbildung u. s. w. — urteilen, oder nach dem chemischen Effekt — Nitrit- und Nitratbildung, so wird durch die Verunreinigung mit fremden Organismen in dem einen wie dem anderen Falle das schließliche Resultat ganz unsicher gemacht. Was den chemischen Effekt betrifft, so ist zu berücksichtigen, daß diese fremden Arten einen Teil der Arbeit übernehmen, speziell den Prozeß mit der Spaltung der Substanz einleiten können, worauf dann die nitrifizierenden Arten die Oxydation des fertig gebildeten Ammoniaks hervorrufen, so daß der Endeffekt erst durch kombinierte Wirkung von mehreren Arten zu stande gebracht wird.

Aufgabe 4 besteht nun im Studium dieser kombinierten Wirkungen in Mischkulturen. Die Ausbeute an oxydiertem Stickstoff wird dabei den leitenden Gesichtspunkt geben, und das größte Interesse werden natürlich Bakteriengemenge beanspruchen, bei deren Bethätigung diese Ausbeute besonders günstig oder besonders ungünstig ausfällt.

Ohne sich weiter in Betrachtungen über verschiedene, an diese Hauptaufgaben sich knüpfende Teilfragen einzulassen, können wir mit der Bemerkung, daß hier ein sehr weites Feld vorliegt, dessen Bearbeitung die Kräfte des Einzelnen weit übersteigt, schließen und einen Versuch machen, kurz das Facit zu ziehen von den Beobachtungen, welche zur Aufklärung dieser Fragen beigetragen haben.

Zuerst mit der Aufsuchung der Ammoniak oxydierenden, Nitrit bildenden Organismen beschäftigt, habe ich nachgewiesen, daß kein solcher Organismus mit Hilfe der Kultur auf Nährbouillon, Gelatine und Agar sich isolieren läßt. Ich habe dann nachgewiesen, daß bei Anwendung von nur reine anorganische Salze enthaltender wässeriger Lösung die besten Bedingungen für die Ammoniakoxydation gegeben sind, wobei die Entdeckung, bezw. Reinigung des betreffenden Organismus relativ leicht gelingt. Seine Isolierung ist mir dann hauptsächlich unter Anwendung von Ammonsalz-haltiger Kieselgallerte gelungen. Auch die Ursachen von diesem abweichenden Verhalten der Nitrobakterien habe ich ermittelt und die Grundzüge des so eigenartigen Ernährungsmodus dieser Bakterien geschildert. Vor die

Aufgabe gestellt, ein nitritoxydierendes, nitratbildendes Bakterium zu entdecken, habe ich ebenso schlechte Erfahrungen mit den in der Bakteriologie gebräuchlichen Substraten gemacht und meine Beobachtungen dahin zusammengefaßt, daß auch ein nitratbildendes Bakterium sich mit Hilfe von Bouillon, Fleischpepton-Gelatine und Agar nicht isolieren läßt, und auch einfachere organische Verbindungen, wie sie sich im Urin, Heuinfus, Humusextrakt vorfinden, das Erscheinen von diesem Bakterium auf festen, nitritfreien Medien nicht bedingen, wie auch seine Wirkung in nitrithaltiger Lösung nicht begünstigen, welche Wirkung am besten durch unbestimmte Generationen in rein mineralischer Lösung vor sich geht. Daraus schien eine weitgehende Analogie des Nitratbildners mit dem Nitritbildner hervorzugehen, aber weiter mit meinen Studien des ersteren vorzudringen, war mir damals (äußerer Umstände wegen) nicht beschieden. Nach einer Unterbrechung unternahm ich schließlich noch eine Reihe von Nitrifikationsversuchen unter Zusatz von stickstoffhaltigen organischen Substanzen, benutzte aber für diese Versuche nur den Nitritbildner, welcher mir besser bekannt war. Ich impfte ihn reichlich in Nährbouillen und Gelatine, 1-proz. Asparaginlösung, $^1/_2$-proz. Harnstofflösung, verdünnten Urin, und habe mich überzeugt, daß das Bakterium weder Trübung, noch irgendwelche sichtbare oder chemisch nachweisbare Veränderungen in allen diesen Medien bewirkt. Daraus schien mir der Schluß wahrscheinlich, daß der Nitritbildner stickstoffhaltige organische Substanz nicht zu verwerten weiß und keine Stickstoffsäure auf Kosten von organischem Stickstoff erzeugen kann. Zu ähnlichen Versuchen mit dem Nitratbildner bin ich damals nicht gekommen und habe nur mit großer Reserve angedeutet, daß, nach sonstigen Analogien zu urteilen, die Verhältnisse auch beim letzteren ähnliche seien.

Aus diesem kurzen Résumé meiner diesbezüglichen Beobachtungen sehen wir, daß diese weit entfernt sind, alle die oben gestellten Fragen zu beantworten. So viel schien aber aus diesen Beobachtungen hervorzugehen, daß die Nitrobakterien eine scharf abgesonderte physiologische Gruppe darstellen, welche an die Seite der von mir studierten Sulfo- und Ferrobakterien zu stellen seien. Das physiologische Charakteristicum aller dieser Bakterien läßt sich dahin zusammenfassen, daß bei denselben die Oxydation einer anorganischen Verbindung an Stelle und gleichsam als Aequivalent eines Gär- oder Atmungsvorganges auftritt, und daß die ganze Ernährungsweise wie bei chlorophyllführenden Pflanzen eine rein mineralische sein kann. Mikroben dieser Art habe ich bereits 1887 kennen gelernt und gleich beim Antritt meiner Nitrifikations-Arbeiten von 1890 die Hypothese ausgesprochen, daß die Nitrobakterien wohl zu dieser Gruppe gehören dürften. Bis jetzt ließ sich keine Thatsache weder von mir, noch von Anderen beobachten resp. aufrecht erhalten, welche mit dieser Hypothese unvereinbar wäre.

Die Bedeutung der neuesten Angaben von Burri und Stutzer ist also für mich eine prinzipielle, und erschienen mir ihre Angaben besonders deshalb einer ausführlichen Prüfung wert. Sollten die Beobachtungen der genannten Forscher sich als richtig erweisen, so

wären die obigen Auffassungen nicht in allen Teilen aufrecht zu erhalten resp. dahin abzuändern, daß die rein mineralische Ernährungsweise mit einfacher Oxydation als Energiequelle für die Nitrobakterien keine obligate ist, sondern nur eine fakultative, und daß das Nitrifikationsvermögen kein streng spezifisches mit dem allgemeinen Ernährungstypus inkompatibles ist.

Ich kann aber nicht verhehlen, daß ich in meiner Nachprüfung der Arbeit von Stutzer und Burri von der Voraussetzung ausging, daß die genannten Autoren sich haben täuschen lassen, indem ihnen die Isolierung des Nitratbildners in voller Reinheit nicht gelang und sie eine Sammelspecies als den Nitratbildner beschrieben haben. Wie kaum nötig, auseinanderzusetzen, giebt diese Annahme die ungezwungenste Erklärung der oben mitgeteilten merkwürdigen Resultate von Burri und Stutzer. In dem ausführlich geschilderten Gange ihrer Isolierungsoperationen sehe ich auch deutliche Anzeichen zu Gunsten dieser Meinung. In die detaillierte Kritik einzelner Versuche mich einzulassen, würde mich zu weit führen, und scheint es mir besser, im Folgenden allgemein auf die Fehlerquellen bei den diesbezüglichen Versuchen aufmerksam zu machen, um dann weiter einzelne eigene Versuche ausführlich zu beschreiben. Aus dem Vergleiche unserer respektiven Manipulationen wird sich dann von selbst ergeben, in welchen Punkten eigentlich Burri und Stutzer gefehlt haben.

Bakteriologen, welche ausschließlich mit relativ gut auf Gelatine wachsenden Arten zu thun haben, machen sich keine klare Vorstellung von den Schwierigkeiten, welchen man bei der Isolierung und besonders bei der Beurteilung der Reinheit der Kulturen in unserem Falle begegnet. Bei dem gewöhnlichen Gelatineplattenverfahren genügt es ja, von einer gut isoliert gelegenen Kolonie abzuimpfen, nochmals Platten anzulegen und abzuimpfen, um ganz sicher wegen der Reinheit der Kultur zu sein. Man hat meistens kein Bedürfnis nach weiterer Kontrolle, sonst überzeugt die mikroskopische Untersuchung und die Konstanz der Kulturbilder auf bestimmten Substraten sofort von der Reinheit der Kultur. Anders ist es mit den nitrifizierenden Bakterien und den sie begleitenden Gemengen. Erstens bestehen dieselben aus äußerst kleinen, unscheinbaren, einander sehr ähnlichen Formen, wobei die verunreinigenden Arten in relativ sehr kleiner Individuenzahl der spezifischen beigemengt sind. Folge davon ist, daß eine noch sehr unreine Kultur unter Umständen, besonders bei nicht zu peinlich sorgfältigen mikroskopischen Untersuchungen, gar leicht die Gleichartigkeit einer Reinkultur vortäuschen kann. Zweitens sind auch die Kolonieen der Nitrificationsmikroben auf festen Substraten äußerst klein und wachsen außerordentlich langsam bis zu einer mit der Lupe eben sichtbaren Größe. Nicht zu sprechen davon, daß das Abimpfen von so kleinen Kolonieen einige Vorrichtungen, gutes Präparationsmikroskop z. B., und einige Uebung und Geschick erfordert, hat das sehr langsame Wachstum noch den sehr großen Nachteil, daß die Platten gewöhnlich in ziemlich verunreinigtem Zustande zur Abimpfung gelangen. Das Wachstum der verunreinigenden Arten ist gewöhnlich unbedeutend, aber insofern sehr störend, daß sie meistens

äußerst dünne, manchmal nur als etwas trübe Flecken sichtbare Auflagerungen bilden, die fast die ganze Oberfläche bedecken. Daran ist freilich die Beschaffenheit der Kieselgallerte wohl am meisten schuld, deren Gebrauch an Bequemlichkeit und Sicherheit kein Vergleich mit den üblichen gelatinierenden Medien aushalten kann; ihre unangenehmste Eigenschaft, die Wasserabgabe, ist schwer mit Sicherheit zu verhüten, obgleich manchmal unbedeutend, kann sie doch bei mehrwöchentlichem Stehen der Platten dieselben ganz unbrauchbar machen, wobei das Schlimmste ist, daß man diese Unbrauchbarkeit wegen der überall spärlich zerstreuten verunreinigenden Arten[1]) erst nach sehr sorgfältiger Untersuchung mit stärkeren Vergrößerungen erkennt.

Die Zahl der Fehlerquellen bei den Isolierungsoperationen ist, wie man sieht, groß genug. Und nun vollends, hat man bei den besten Bedingungen abgeimpft und Nitrifikation in mineralischer Lösung erzielt, so steht man weiter vor der Frage, wo findet man jetzt das Kriterium, um zu entscheiden, ob die Kultur wirklich rein ist oder noch fremde Mikroben enthält? Mikroskopische Untersuchung, so sorgfältig sie sein mag, giebt keinen sicheren Aufschluß, das kulturelle Verhalten ist auch zu wenig ausgeprägt und mehr negativer Art; erkennt man nicht die Notwendigkeit einer strengen Kontrolle, und stellt man nicht mannigfaltige, speziell auf die Prüfung der Reinheit der Kulturen gerichtete Versuche an, so bleibt es fast dem Gutdünken eines Jeden überlassen, ob man diese oder jene nitrifizierende Kultur für rein erklärt oder nicht.

Soweit über die Methoden. Folgende letzte Bemerkung betrifft aber den Beobachter selbst. Huldigt er der Hypothese von dem leichten morphologischen und physiologischen Variieren der Mikroben, so ist er der Täuschung doppelt ausgesetzt. Ohne die gut untersuchten Fälle von Umzucht, Rassenbildung, Abschwächung oder Verstärkung gewisser Eigenschaften irgendwie bezweifeln zu wollen, möchte ich nur ausdrücklich bemerken, daß die oben erwähnte Hypothese mir als eine recht gefährliche Arbeitshypothese erscheint. Keine ist so geeignet, in schwierigen Fällen den Beobachter irre zu führen als sie. Es fahndet z. B. der betreffende Beobachter auf das Bakterium x, das sich durch bestimmte Eigenschaften auszeichnet; es gelingt ihm aber nur das Bakterium y aus dem Gemenge zu erhalten, welches natürlich nicht die gesuchten Eigenschaften zeigt. Behält unser Bakteriologe sein Ziel scharf im Auge und setzt mit Ausdauer seine Bemühungen fort, so gelingt ihm die möglicherweise Reinzüchtung von dem gesuchten Mikroben früher oder später. Ist er aber bald mit dem Schlusse fertig, daß x die gewünschten Eigenschaften nicht zeigt, weil es eben unter diesen oder jenen Bedingungen sich verändert hat, so wird nur zu leicht y für x erklärt und damit der Weg nach dem Erkenntnis des wahren Sachverhaltes oft ganz versperrt.

Nach diesen vielleicht etwas langen Präliminarien, die mir doch

---

1) Vergl. das in dieser Hinsicht instruktive Photogramm 13. Taf. IV meiner morphologischen Abhandlung über die Nitrifikationsmikroben in Archives de sciences biologiques. Bd. I. H. 1.

notwendig schienen, um die Gesichtspunkte klar zu bezeichnen und Mißverständnisse zu verhüten, gehe ich zur Schilderung meiner Versuche mit dem von Prof. Stutzer erhaltenen Materiale über:

Die Nährlösung, welche wir für diesmal gebraucht haben, und welche wir im Folgenden als Nitritnährlösung bezeichnen werden, hatte folgende Zusammensetzung:

Natriumnitrit (Natr. nitros. puriss. Merck)	1,0 g
Kaliumphosphat	0,5 „
Magnesiumsulfat	0,3 „
Natriumkarbonat (wasserfrei, schwach geglüht)	0,5 „
Natriumchlorat [1])	0,5 „
Dest. Wasser (ein zweites Mal mit Chamäleon überdestilliert)	1 l.

Die Kultur geschah meistens in konischen Kolben mit breitem flachem Boden, welche, selbstverständlich mit guten Wattepfropfen versehen, zuerst trocken und nachher mit 50 ccm Nährlösung beschickt im Autoklaven sterilisiert wurden [2]). Wenn es sich weniger um die Intensität der Oxydation handelte, als um die Züchtung von reinem Aussaatmaterial, wurden kleine Pasteur'sche Kölbchen (matras Pasteur) gebraucht.

Die Beschreibung der Nitrifikationsversuche wird man mir erlassen, da an dem von Burri und Stutzer Mitgeteilten nichts zu ändern ist.

Ich habe direkt meine Versuche auf den interessantesten Punkt, nämlich die angebliche Wandelbarkeit des Oxydationsvermögens unter dem Einflusse von organischer Substanz, gerichtet. Ich beschloß, von dem Original-Material ausgehend, die eine Kulturreihe ausschließlich in mineralischen Substraten zu führen, die andere dagegen ausschließlich in Nährbouillon, von Zeit zu Zeit das Oxydationsvermögen der beiden Reihen zu prüfen und event. nach verschiedenen Richtungen zu modifizieren zu suchen.

Es hat sich sofort ergeben, daß die Bouillonorganismen schon nach der zweiten Ueberimpfung gar keine Spur von Nitrifikationsvermögen mehr besitzen: In keinem einzigen Falle konnte man nach Versetzen derselben in Nitritnährlösung die mindeste Abnahme der Nitritreaktion konstatieren. Nachdem ich diesen Punkt festgestellt, setzte ich folgenden Versuch in Gang: Neben reiner Nitritnährlösung wandte ich dieselbe Lösung mit steigendem, paarweiße gleichem Zusatze von Nährbouillon an, und von den 10 Kölbchen impfte ich gleichzeitig fünf mit in Bouillon (fünfte Generation) gezüchteten, fünf mit in Nitritnährlösung (zweite Generation) gezüchteten Organismen. Die Resultate sind in folgender Tabelle zusammengestellt. Impfzeit 7. Februar.

---

1) In früheren Versuchen schien uns oft Kochsalz die Oxydation zu begünstigen, so haben wir es auch jetzt zu der Lösung zugesetzt, doch ohne Gewißheit, daß dieser Zusatz von irgend welcher Bedeutung ist.

2) Die Anwendung von Glasschalen mit übergreifendem Deckel, wie es B. und. S. thun, ist natürlich unzulässig, wenn es sich um die Reinheit der Kulturen handelt, da die Gefahr der Verunreinigungen von außen dabei nicht ausgeschlossen ist.

No.	Flüssigkeit	Ursprung der Mikroben	Nitritreaktion verschwunden
1	20 ccm Nitr.-Lös.	Nitritnährlösung	15. Februar
2	„ „ „ $+ {}^1/_4$ ccm Bouillon	„	18. „
3	„ „ „ $+ {}^1/_2$ „ „	„	20. „
4	„ „ „ + 1 „ „	„	10. März
5	„ „ „ + 2 „ „	„	18. „
6	20 ccm Nitr.-Lös.	Nährbouillon	Bleibt dauernd maximalstark erhalten. Letzte Prüfung 18. Arpil.
7	„ „ „ $+ {}^1/_4$ ccm „	„	
8	„ „ „ $+ {}^1/_2$ „ „	„	
9	„ „ „ + 1 „ „	„	
10	„ „ „ + 2 „ „	„	

Die Resultate dieser Versuchsreihe sind ebenso bestimmt wie lehrreich. Einerseits sieht man, daß das Oxydationsvermögen gar nicht so leicht durch Zusatz von Proteïnstoffen unterdrückt wird; es tritt zwar in ausgeprägter Weise eine um so größere Verspätung in diesem Vorgange ein, je größer der Bouillonzusatz ist, aber, wenigstens unter den gegebenen Bedingungen, geht die Oxydation zu Ende selbst bei relativ bedeutendem Bouillonzusatz. — Andererseits tritt um so schärfer die vollständige Unfähigkeit der in Bouillon gezüchteten Organismen, Nitrite zu oxydieren, hervor. Unter ganz gleichen Bedingungen haben diese Organismen keine Nitrifikation geleistet, obgleich der wechselnde Bouillonzusatz ihnen eigentlich die Rückgewöhnung an den rein mineralischen Nährboden erleichtern sollte. Man vermeidet ja bekanntlich bei Umzüchtungsversuchen schroffe Uebergänge, trachtet immer darnach, durch allmähliche Gewöhnung gewisse schlummernde Eigenschaften wieder zu erwecken. Daß jede Andeutung des Erfolges ausgeblieben ist, spricht entschieden zu Ungunsten der Annahme, daß diese Bouillonorganismen je mit Nitrifikationsvermögen ausgestattet waren.

Es erscheint jetzt schon als viel plausibler, daß der spezifische Organismus in Bouillon einfach zu Grunde geht oder vielmehr nicht zur Entwickelung gelangt, so daß man durch ein paar Ueberimpfungen auf demselben Substrate ein ganz von dem Mikroben freies Material heranzüchten kann. Als die notwendige Konsequenz dieser Annahme mußten wir erkennen, daß die Kultur von Stutzer und Burri keine reine ist, sondern fremde Arten neben dem Nitritbildner enthält.

Nun galt es, denselben einwandsfrei zu isolieren und die Gegenwart von verunreinigenden Arten nachzuweisen.

Wenn man, wie ich jetzt, eine früher viel studierte Frage wieder aufnimmt, so ist es gewöhnlich angenehmer und auch nützlicher, etwas neue Wege zu wandeln, oder einfacher, abgeänderte Handgriffe zu probieren, selbst in dem Falle, wo die alten perfekt schienen, umsomehr, wenn sie etwas zu wünschen übrig ließen. Ich beschloß daher, den Gebrauch von Kieselgallerte womöglich ganz zu umgehen und zur Kultur auf festem Medium und zu Isolierungsarbeiten ein anderes Substrat zu versuchen. Obgleich ich früher schon Agar versucht hatte, und ohne jeden Erfolg, lag vielleicht damals die Ursache des Mißerfolges nicht in diesem Stoffe selbst, sondern in der Zusammensetzung der zu gelatinierenden Lösung. Eine eigene schädliche Wirkung dem Agar zuzumuten, schien mir jetzt wenig begründet und jedenfalls des Versuches wert, ob man nicht mit Hilfe dieses anscheinend so passenden Stoffes ein Substrat bereiten könnte, auf dem der Nitritbildner sicht-

bare Kolonieen bilden würde. Grundbedingungen schienen nur: Ausschließen von sonstiger organischer Substanz, passender Gehalt an Karbonaten und sonstigen Salze, besonders nicht zu kleiner, eher starker Gehalt an Nitrit. Letztere Bedingung schien mir wichtig, da ich daran festhielt, daß die Vermehrung des Fermentes bei äußerst schwacher Substanzbildung Hand in Hand mit der Oxydation geht, und die Größe der Kolonieen demnach von der Menge des Nitrits abhängig ist; hätte man also die gewöhnliche Menge davon zugesetzt, so würden die Kolonieen nur sehr klein bleiben und die Abimpfungsversuche dadurch ungemein erschweren.

Ich wählte folgende Zusammensetzung:

Natr. nitros. puriss. (Merck)	2 g
Soda (wasserfrei)	1 g
Kaliumphosphat	Messerspitze
Agar-Agar	15 g
Flußwasser	1 l

Mit diesem Substrate habe ich sogleich unerwartet günstige Resultate erzielt und ein Medium, wie es für das betreffende Bacterium kaum passender sein kann, gefunden. Den Verlauf der ersten Versuchsreihe möchte ich nun etwas ausführlicher schildern, da sie als Beispiel dienen kann, wie man verfährt, um in einem beliebigen unbekannten Bakteriengemenge den nitritoxydierenden Mikroben aufzufinden.

Am 16. März wurden 7 Platten (in Petri'schen Schalen von 9 bis 10 cm Durchmesser) aus dem obigen Substrat bereitet, das wir als Nitritagar im Folgenden bezeichnen werden. Die ersten vier wurden durch Verteilung der Keime in das noch flüssige Medium eingeimpft, die übrigen drei durch Oberflächenimpfung.

Platte 1 bekam 1 Platinöse direkt aus einer alten reichen Kultur in Nitritnährlösung,
„ 2 „ 1 „ direkt aus einer jüngeren Kultur,
„ 3 „ 1 „ direkt aus einer Verdünnung von 1 Platinöse aus der obigen alten Kultur in 50 ccm Nitritnährlösung,
„ 4 „ 2 Tropfen aus einer Verdünnung von 5 Tropfen der obigen jüngeren Kultur in 50 ccm Nitritnährlösung,
„ 5 „ 1 „ aus derselben Verdünnung auf die Oberfläche mit einem sterilisierten weichen Pinsel ausgestrichen,
„ 6, 7 „ nur 1 Platinöse aus derselben Verdünnung auf die Oberfläche ausgestrichen.

Die Platten wurden meistens bei 28° gehalten.

Bereits am 18. bemerkte man mit bloßem Auge das Auftreten von zahlreichen Kolonieen auf der Oberfläche, wie auch im Innern des Substrates. Die Untersuchung der Oberflächenplatten mit dem Zeiß'schen Präparations-Mikroskop ließ deutlich zwei Arten von Kolonien unterscheiden: 1) runde, schwach milchig trübe, tropfenähnliche, ganz farblose; 2) ganz flache, ausgebreitete, mit etwas erhabenem Nabel und sehr gebuchtetem Kontur, schließlich unregelmäßig sternförmig aussehende, von sehr schwacher, aber merklich gelblicher Färbung. Die Größe der beiden Kolonieenarten variierte zwischen 1 und 3 mm im Durchmesser; später wurden sie größer. An darauffolgenden Tagen konnte man mit bloßem Auge auch an den inneren, in der Größe weit zurückgebliebenen Kolonieen zwei Arten erkennen:

mehr runde oder ovale, weißliche und linsenförmige, gelbe oder orangefarbene. Mikroskopische Untersuchung ergab deutliche Verschiedenheit in dem Aussehen der die zwei Formen von oberflächlichen Kolonieen bildenden Organismen. Von beiden wurde Zwecks der Reinzüchtung derselben abgeimpft. — Es wurde inzwischen unausgesetzt immer weiter nach einem hypothetischen dritten Mikroben auf den Platten gefahndet, da in den erschienenen zweien keinen Augenblick das nitratbildende Bakterium vermutet wurde. Dazu erfolgte das Erscheinen der obigen zwei auf den Platten zu rasch, ihre Substanzbildung war noch zu ansehnlich, auch die Form von flachen, rasch sich ausbreitenden Kolonieen charakterisiert das Wachstum von banalen Bakterien auf armen Substraten. Einige Male wiederholte Untersuchung ließ aber bis zum 26. März keine dritte Kolonieenart auffinden; auch die Nitritreaktion blieb erhalten. Erst an dem genannten Tage konstatierte man das gänzliche Verschwinden derselben bei Platte 1, welche man sofort einer eingehenden Untersuchung unterwarf. Schon mit bloßem Auge, wenn man die Platte gegen das Licht hielt, war eine intensive Trübung der von sichtbaren Kolonieen gänzlich freien Zwischenräume bemerkbar; unter einer starken Lupe erschien die ganze Platte von unzähligen kleinsten Pünktchen durchsetzt. Ueber die Natur derselben hat die mikroskopische Untersuchung bei 150—200-facher Vergrößerung Aufschluß gegeben: Es waren mikroskopisch kleine, vollständig einförmige Kolonieen, die unregelmäßig rundlich, sehr scharf konturiert, sehr stark lichtbrechend und farblos erschienen, in enormer Zahl. Für dieses Mal hatte ich keinen Zweifel, daß ich den Nitratbildner vor mir hatte. Das späte Erscheinen, wie die Kleinheit der Kolonieen [1]) waren für mich Merkmale, wonach ich einen nitrifizierenden Organismus zu erkennen glaubte; auch ließ das Aussehen der direkt aus einer reichen Kultur geimpften Platte gar keinen Zweifel übrig, welche von den drei Formen man als die vorherrschende betrachten muß. Denn auf einige wenige Hunderte Kolonieen der zwei ersten Arten waren unzählige Millionen der dritten gewachsen. Auf den übrigen, besonders oberflächlichen Platten (welche alle im Laufe von weiteren 10 Tagen ihre Nitritreaktion verloren haben) war es jetzt auch ein Leichtes, diese Kolonieen als kleinste, stark lichtbrechende Tröpfchen zwischen den großen „runden“ und den „sternförmigen“ massenhaft aufzufinden. Nach aufmerksamer Durchmusterung aller Platten entstand freilich noch einiger Zweifel, ob alle die kleinsten Kolonieformen, die man sah, einer Art angehörten; einige davon schienen bis zweimal größer als die Mehrzahl und von etwas verschiedenem Aussehen, der Unterschied war aber so unbedeutend, daß man zu

---

1) Freilich schienen mir in dem einzigen Kulturversuche des Nitratbakteriums aus Quito auf Kieselgallerte die Kolonieen größer und von eigentümlich gebogener lamellenartiger Form. Indessen schreibe ich dieser Beobachtung keine besondere Bedeutung zu. Erstens ist sie vereinzelt geblieben und zweitens habe ich nachträglich den Verdacht gehabt, daß an der Form der Kolonieen im Innern der Kieselgallerte mehr das Substrat als der Organismus selbst Schuld hat, da die sehr wenig elastische Gallerte unter Umständen Neigung zur Bildung von mikroskopisch kleinen, wassererfüllten Rissen hat, in welchen die Kolonieen aufgeschwemmt erscheinen.

Gunsten der Identität der beiden Kolonieenarten entschied, indem man die etwas abweichende Größe und das Aussehen durch freieres Wachstum auf weniger dicht besäeten Platten erklärte. Wie man durch diese Annahme in einer Versuchsreihe irregeleitet wurde, davon ist weiter unten die Rede. — Am 29. März wurden gleichzeitig acht Pasteur'sche Kölbchen geimpft, je 5 ccm Nitritnährlösung enthaltend, mit verschiedenen Kolonieen aus den Platten. Für das Abimpfen benutzte man Platte 6, wo die Kolonieen oberflächlich und weniger dicht lagen; die Abimpfung geschah unter Benutzung des großen Zeiß'schen Präparationsmikroskops, wobei man den Stich in die Kolonie mit Hilfe eines frisch zu einer haarfeinen Kapillare ausgezogenen Glasröhrchens ausführte, deren Spitze man in dem einzuimpfenden Kölbchen mit einem Stoß abbrach. Am 12. April geprüft, zeigten drei von den Kölbchen keine Nitritreaktion mehr, bei den übrigen fünf blieb sie maximalstark erhalten (letzte Prüfung am 1. Mai). Schon am 12. April impfte man zur Kontrolle je zwei Bouillonröhrchen durch einen Tropfen aus jedem Kölbchen und ließ sie bei 30° stehen. Die von den drei nitrifizierten Kulturen geimpften Nährbouillonröhrchen blieben dauernd vollständig klar und unverändert. Von den fünf nicht nitrifizierten ließ eine die Nährbouillon unverändert; die übrigen vier gaben im Laufe von 3—5 Tagen Trübung und Bakterienentwickelung; bei zwei derselben war die Trübung eine äußerst schwache und blieb unter Bildung von einem sehr kleinen Häufchen rein weißen Bodensatzes unbestimmte Zeit bestehen; bei den übrigen zwei endlich war die Trübung eine intensivere, klärte sich aber nach etwa 14 Tagen unter Bildung eines rötlichen Bodensatzes vollständig. Nach diesen Kulturmerkmalen werden wir später die verunreinigenden Bakterien des Originalmaterials leicht erkennen.

Diese erste Versuchsreihe hat also bereits ganz bestimmte Resultate ergeben: Einerseits Nitritoxydationsvermögen und Unfähigkeit, in Nährbouillon zu wachsen, andererseits Entwickelung in derselben, aber totaler Mangel an Nitrifikationsfähigkeit. Wir betonen dabei, daß die der zweiten Kategorie angehörenden Organismen weder Bouillon, noch Gelatine passiert also keine Gelegenheit hatten, ihr Oxydationsvermögen zu verlieren. Was die drei bouillon-sterilen, aus den Nitritagarplatten geimpften Kölbchen betrifft, so erwiesen sie sich als vollkommene Reinkulturen des nitratbildenden Bakteriums aus Northeim a. d. L. und wurden zu Stammkulturen von nach Dutzenden zählenden Kulturversuchen in Nitritnährlösung und Nitritagar. Die Gewißheit, daß dieselben wirklich rein sind, haben wir erst nach einer Reihe von Kontrollbeobachtungen gewonnen, zu deren kurzer Beschreibung wir jetzt übergehen.

Bei derartigen Kontrollversuchen ist es meistens unerläßlich, die verunreinigenden Arten scharf im Auge zu behalten und sie mit dem spezifischen zu vergleichen. Das morphologische und kulturelle Verhalten dieser fremden Formen habe ich aufmerksam studiert, glaube aber, daß ihre ausführliche Beschreibung vorläufig nur geringes Interesse bieten könnte, und werden wir uns nur so weit mit ihnen

beschäftigen, als dies uns notwendig scheint, um die Verschiedenheit dieser Formen von Nitratferment und auch von einander klar zu stellen.

Wir haben schon erwähnt, daß wir aus den ersten Nitritagarplatten zwei fremde Formen isoliert haben, welche wir als Bacterium α und Bacterium β bezeichnen werden. Diese haben wir dann vorläufig immer nur noch mit Hilfe von Nitritagar durch eine zweite und dritte Reihe von Plattenkulturen gereinigt und dann erst in verschiedenen Medien kultiviert. (Schluß folgt.)

Referate.

Wager, H., Preliminary note upon the structure of bacterial cells. (Annals of Botany. Vol. IX. 1895. p. 659—661.)

Als einfachste gebaute Bakterie beschreibt Verf. einen Bacillus, dessen Plasmakörper aus einem centralen, stabförmigen Körper besteht, der stark tinktionsfähig und in Pepsin nicht verdaubar ist, und aus einer wenig tinktionsfähigen Substanz, die namentlich an den Enden sichtbar ist. Der Teilung der Zellen geht eine Teilung des centralen Körpers voraus. Die Struktur der anderen Bakterien betrachtet Verf. als Differenzierungen dieser einfachen Form. Als Beispiel führt er noch Spirillum undula an, bei dem zahlreiche, tinktionsfähige, querverlaufende Bänder in jeder Zelle vorhanden sind. Dieselben vermehren sich durch Teilung, in manchen Fällen treten hierbei Körnchen auf, die an der Peripherie der Zellen angehäuft und durch ein Netzwerk der weniger tinktionsfähigen Substanz verbunden sind. A. Zimmermann (Berlin).

Ward, H. M., The formation of bacterial colonies. (Annals of Botany. Vol. IX. 1895. p. 653—657.)

Verf. konnte bei der mikroskopischen Beobachtung in hängenden Gelatinetropfen feststellen, daß die beiden aus einer einzelnen Bakterie entstandenen Tochterzellen nach der Trennung an einander hinglitten und daß sich dieser Prozeß wiederholte, so daß kleine spindelförmige Gruppen von Bakterien entstanden, die einander mit den Längsseiten berührten. Es wird dies, ebenso wie die Entstehung birnen- oder traubenförmiger Kolonieen auf die Elastizität der Gelatine zurückgeführt. Bei Bacillen, die die Gelatine in gleicher Weise nach allen Seiten verflüssigen, oder auch bei künstlicher Verflüssigung derselben beobachtete Verf. ferner an der Grenze der Verflüssigung eine sehr regelmäßige radiäre Anordnung der Bacillen, die er als Folge der Chemotaxis ansieht.

Besonders betont aber Verf., daß die Variation der Bakterien eine viel größere ist, als man bisher gewöhnlich annahm. Speziell

sollen minimale Verschiedenheiten in der Zusammensetzung des Nährsubstrates, in der Temperatur und Beleuchtung bedeutende Differenzen in der Form, Wachstumsweise, Größe und Farbe der Bakterien erzeugen. Der Umstand, daß die aus Flußwasser isolierten Bakterien sich vor der Kultur im Laboratorium unter verschiedenen Bedingungen befanden, macht es erklärlich, daß die gleichen Arten auch unter gleichen Kulturbedingungen verschiedenartige Kolonieen liefern. Das Bestimmen derselben muß natürlich hierdurch in hohem Grade erschwert werden. A. Zimmermann (Berlin).

Ward, H. M., A false Bacterium. (Annals of Botany. Vol. IX. 1895. p. 657—658.)

Der beschriebene Organismus besteht aus bacillenähnlichen Stäbchen von 2—4 μ Länge und 1 μ Dicke und aus kokkenähnlichen Kugeln von 1 μ Durchmesser. Er entwickelt sich auf Gelatine, Agar-Agar und Kartoffeln, sowie in Bouillon, Milch und anderen Medien und verhält sich auch gegen Färbungsmittel ganz wie eine Bakterie. Dennoch zeigte die genaue Untersuchung der Entwickelungsgeschichte, daß es sich um die Oidienform eines echten Pilzes handelt, der echte Verzweigungen und akropetales Spitzenwachstum zeigt. Erst durch den Zerfall dieser Mycelien entstehen die bacillen- und kokken-ähnlichen Körper. A. Zimmermann (Berlin).

Clautriau, G., Étude chimique du glykogène chez les champignons et les levures. (Extrait des Mémoires couronnés et autres Mémoires publiés par l'Académie royale de Belgique. T. LIII.) 8°. 99 p. Bruxelles 1895.

Das Vorkommen des Glykogens im Pflanzenreich wurde bekanntlich durch die Arbeiten von Erréra in bestimmtester Weise dargethan. Indem er die alten Beobachtungen von Tulasne über den Inhalt des Trüffelaskus und die späteren von de Bary über das Epiplasma der Askomyceten wieder aufnahm, zeigte er, daß die braunrote Färbung, welche diese beiden Autoren mit Jod erhalten hatten, an die Gegenwart eines Körpers gebunden war, dessen mikro- und makrochemische Eigenschaften genau denjenigen des typischen animalischen Glykogens entsprachen. Die Menge der Substanz, welche Erréra erhalten, war jedoch zu gering, als daß er eine Elementaranalyse machen und das Drehungsvermögen genau bestimmen konnte. Die Beobachtungen und Schlußfolgerungen Erréra's über die Identität der beiden Glykogene wurden später von Anderen bestätigt; eine chemische Untersuchung wurde jedoch auch nicht vorgenommen.

Die Gegenwart von Glykogen in der Hefe wurde zum ersten Male ebenfalls von Erréra nachgewiesen und bei wiederholten Untersuchungen bestätigt. Salkowski hat aus der Hefe einen Körper mit den Eigenschaften des Glykogens dargestellt, das er aber unter dem Einfluß der Anschauungen Nägeli's mit Unrecht als ein Derivat der Membran betrachtete. Laurent versuchte in seiner vorzüglichen Arbeit über die Physiologie der Hefe die von letzterer eingeschlossenen Glykogenmengen auf indirektem Weg zu bestimmen, welcher jedoch nicht genügt, um den großen Reichtum dieses Mikro-

organismus an dem genannten Kohlehydrat zu beweisen. Cremer hat sich ebenfalls mit der Darstellung des Glykogens beschäftigt und kommt im allgemeinen zu den gleichen Schlußfolgerungen wie Errèra. Verf. benutzte zur Darstellung des Glykogens in größeren Mengen. Boletus edulis, Amanita muscaria und Phallus impudicus. Außerdem wurde noch das Glykogen der Bierhefe ausgezogen.

Die Pilze müssen sofort höherer Temperatur ausgesetzt werden, um die Enzyme, welche das Glykogen umsetzen, zu zerstören. Speziell bei dem Phallus erschien dies sehr notwendig, während Boletus ziemlich lange der Luft ausgesetzt bleiben kann, ohne daß sich das aufgespeicherte Glykogen zu vermindern scheint. Es treten also hier ganz analoge Erscheinungen wie im Tierreiche auf. Um die Pilze abzutöten, genügt es, sie nach der Zerkleinerung in kochendes Wasser zu bringen. Bei der Extraktion des Glykogens, insbesondere aus vegetabilischen Geweben, handelt es sich weiter darum, letzteres möglichst zu zerreiben. Die Bearbeitung im Mörser genügt hierzu jedoch nicht, indem hierdurch wohl die Zellen von einander getrennt, aber nicht zerstört werden. Die schleimige Schicht, welche die Zellmembranen bekleidet, schützt dieselben vor einer Zertrümmerung.

Das Zerreiben unter Zusatz von Sand oder anderen unlöslichen Körpern, welches bisher wohl allgemein angewendet wurde, giebt kaum zufriedenstellendere Resultate. Das einzige Mittel, um fast alle Zellen zu zerstören und so das meiste Glykogen zu erhalten, besteht darin, das Gewebe zunächst zu trocknen und es dann zu pulverisieren.

Verf. beschreibt die Schwierigkeiten, welche insbesondere bei Boletus edulis die Gegenwart von schleimigen Substanzen der Reindarstellung des Glykogens bereiten und giebt eine ausführliche Darstellung der Methode, durch welche dasselbe frei von diesen gleichzeitig in Lösung gebrachten Schleimen erhalten wurde. Es soll auf dieselben hier nicht näher eingegangen werden; es sei nur erwähnt, dass die Extraktion mittelst heißen, schwach alkalischen Wassers erfolgt. Aus der neutralisierten Lösung wird der größte Teil des Schleimes durch Erzeugung eines Niederschlages von phosphorsaurem Kalk und hierauf das Glykogen durch einen Niederschlag von Eisenhydroxyd gefällt. Nach Zusatz von Chornatrium und schwefelsaurem Ammon wird die ziemlich konzentrierte Lösung des Glykogenniederschlages behufs Absitzenlassens der in dieser Salzlösung unlöslichen schleimigen Massen der Ruhe überlassen. Das Glykogen fällt man sodann mittelst einer ziemlich konzentrierten Jodkaliumlösung in Form von „Jodglykogen", das ebenfalls in der konzentrierten Salzlösung unlöslich ist, wieder aus. Das Jodglykogen wird durch schweflige Säure entfärbt und das Glykogen durch Alkohol gefällt.

Die Extraktion des Glykogens aus der Hefe bietet ebenfalls sehr große Schwierigkeiten. Es sind dabei hauptsächlich drei Punkte zu berücksichtigen: 1) daß es sich um ein sehr glykogenreiches Material handelt, 2) müssen die Zellen unbedingt zertrümmert werden und 3) ist es unbedingt notwendig, daß der vorhandene Gummi und Schleim entfernt wird.

Diese verschiedenen Bedingungen zur Reindarstellung des Glykogens sind nicht immer mit der wünschenswerten Strenge eingehalten worden und infolge dessen bestand in manchen Fällen das dargestellte Produkt aus einem sehr unreinen Glykogen.

Die günstigsten Bedingungen zur Anreicherung der Hefe mit Glykogen wurden mit großer Genauigkeit von Laurent angegeben. In Bierwürze oder noch besser in Rübenwasser, dem 12 Proz. Saccharose zugesetzt sind, entwickelt sich die Hefe bei 28° sehr lebhaft und ist in kurzer Zeit mit Glykogen vollgestopft.

Verf. verwendete zur Darstellung des Glykogens aus Hefe Reinkulturen oder gewöhnliche Brauereihefe von guter Qualität, die völlig frei von Stärke war. Letztere darf, um Irrtümern bei der Reaktion mit Jod zu entgehen, nicht anwesend sein und ist deshalb auch gewöhnliche mit Stärke versetzte Preßhefe zu diesem Zweck nicht zu gebrauchen.

Die Hefen wurden zunächst durch aufeinanderfolgendes Ueberimpfen in immer größere Mengen süßer Würze stark vermehrt. Zum Schluß wurde dieselbe, um sie mit Glykogen anzureichern, in eine Würze, der 12 Proz. Saccharose hinzugefügt waren, gebracht, und zwar war die Menge der Hefe so berechnet, daß immer mindestens 1 Liter Nährflüssigkeit auf 50 ccm feuchter Hefe kamen. Bei 30° wird das Maximum der Anreicherung mit Glykogen ungefähr in 5 Stunden erreicht und erhält sich dasselbe während 5—10 Stunden. Sobald die Hefe mit Glykogen vollgestopft ist, muß sie, um eine Verminderung desselben zu verhindern, abgetötet werden. Will man die Anwendung höherer Temperatur, welche gleichzeitig die in der Hefe enthaltenen Enzyme zerstört, vermeiden, so kann man hierzu mit Vorteil Chloroformwasser benutzen. Merkwürdigerweise verschwindet nämlich in den anästhesierten Zellen des Glykogen selbst nach längerer Zeit nicht.

Verf. hat die Extraktion des Glykogens aus Hefe, welche durch Hitze abgetötet und aus solcher, welche mit Choroform behandelt worden war, vorgenommen und keinen Unterschied zwischen den beiden Produkten gefunden. Infolge dessen hat derselbe hauptsächlich höhere Temperatur angewendet, welche gestattet, die Hefe viel vollständiger von den Salzen und den gummiähnlichen Körpern zu befreien.

Die Würze mit der glykogenreichen Hefe wird schwach alkalisch gemacht und rasch aufgekocht. Nach dem Abkühlen wird die abgesetzte Hefe wiederholt mit einer ungefähr 1-proz. Natronlauge erhitzt, und zwar so lange, als sich die Flüssigkeit merklich färbt. Zuletzt wäscht man die Hefe sorgfältig mit heißem Wasser. Auf diese Weise entfernt man eine ziemlich große Menge des Hefegummis, ohne dabei einen merklichen Verlust an Glykogen zu erleiden.

Die größte Schwierigkeit bietet das Zerreiben der Zellen. Selbst bei Zusatz von sehr feinem Sand ist das Resultat kaum günstiger als beim bloßen energischen Bearbeiten im Mörser. Bei Anwendung einer Glasplatte als Reibstein ist das Resultat ein besseres, allein es bedarf hierzu langer Zeit und die Ausbeute ist zu unbeträchtlich, besonders wenn es sich um die Extraktion von Glykogen handelt.

Das Pulverisieren der getrockneten Hefe ist nicht empfehlenswert; die meisten Zellen bleiben intakt.

Schließlich wandte der Verf. folgendes Verfahren an, welches wesentlich darin bestand, aus der Hefe eine trockene, kompakte und ziemlich harte Masse herzustellen und dieselbe langsam auf einem Schleifstein abzuschleifen.

Verf. zählt zunächst die verschiedenen Methoden auf, die er zu diesem Zweck angewendet hat, ohne dabei zum Ziel zu gelangen. Schließlich ergab sich als beste Zumischung pulverisierte Kieselsäure, welche durch Ausfällen eines löslichen Silikates mittels Salzsäure erhalten wurde. Eine Mischung von gleichen Teilen dieser ausgefällten Kieselsäure und Calciumcarbonat ist ebenfalls zu empfehlen.

Die noch feuchte Hefe wurde mit dem doppelten Gewicht der eben angegebenen Beimischung versetzt und sehr innig verrieben. Das erhaltene Pulver wurde sodann unter Zusatz von käuflichem Wasserglas in hinreichender Menge im Mörser tüchtig bearbeitet, um eine homogene dem Glaserkitt ähnliche Masse zu erhalten. Dieselbe wurde in Parallelipede von 8—10 mm Dicke geformt und sehr langsam an der Luft getrocknet, wobei sie nach Bedürfnis mit sehr verdünntem Wasserglas befeuchtet wurden. Nach 5—6 Tagen, wenn die Masse hart geworden ist, beginnt man mit dem Trocknen in Luft, deren Temperatur bis zu 30—40 ° gesteigert wird.

Die „Hefesteine" wurden auf einem durch einen Wassermotor getriebenen Schleifstein abgeschliffen, indem sie durch ein Gewicht, das nach Belieben reguliert werden konnte, mit konstantem Druck gegen den Schleifstein gepreßt wurden. Hierbei ist jede Erhöhung der Temperatur möglichst zu vermeiden, um jede Veränderung des Glykogens hintanzuhalten.

Verf. studierte nun auf das Eingehendste die physikalischen und chemischen Eigenschaften der verschiedenen nach der angegebenen Methode dargestellten Glykogene. Das Resultat dieser Untersuchungen war, daß kein differentielles Merkmal zwischen den Präparaten animalischer und vegetabilischen Ursprungs besteht; dasselbe bestätigte in allen Punkten die Schlußfolgerungen Erréra's. In allen Versuchen verhalten sich die Glykogene in völlig analoger Weise. Trotzdem lassen sich in gewissen Charaktereigentümlichkeiten geringe Unterschiede konstatieren.

Die Glykogone sind ternär zusammengesetzte, nicht stickstoffhaltige Substanzen, welche mit keinerlei Mineralsubstanzen kombiniert sind. Ihre Pseudolösungen opalescieren und verhalten sich gegenüber den verschiedenen Reagentien in ganz ähnlicher Weise. Die gleichen Körper wie Alkohol, Essigsäure, gewisse neutrale oder basische Salze, fällen alle diese Lösungen; ebenso verhalten sich, was sehr wichtig ist, diejenigen Reagentien, welche ohne Einwirkung auf das animalische Glykogen sind, in gleicher Weise gegenüber dem vegetabilischen.

Die chemische Zusammensetzung der Glykogene ist identisch und entspricht bei allen der gleichen Formel 6 $(C_6H_{10}O_5) + H_2O$. Alle sind stark rechtsdrehend; alle weisen denselben Drehungswinkel $\alpha = 189, 18^0$ auf. Die geringen Abweichungen, welche be-

obachtet wurden, müssen kleinen Versuchsfehlern zugeschrieben werden.

Die Spaltungsprodukte der verschiedenen Glykogene bei Einwirkung von Diastase oder verdünnten Mineralsäuren und höherer Temperatur sind die gleichen. Speichel erzeugt als Endprodukt wahrscheinlich Maltose, während mit Säuren Dextrose erhalten wird.

Sehr eingehend studierte Verf. die Jodreaktion der verschiedenen Präparate, wobei sich die Unmöglichkeit ergab, durch dieselbe den animalischen oder vegetabilischen Ursprung derselben zu erkennen. Nur das Hefeglykogen bietet einen Unterschied in Beziehung auf die Färbung und durch den Temperaturgrad, bei welchem die Entfärbung herbeigeführt wird.

Das Hefeglykogen färbt sich mit Jod, gänzlich verschieden von dem Braunrot der übrigen Glykogene braunviolett. Unter dem Mikroskop erscheint diese Färbung sehr deutlich, wenn man die Hefe mit einer sehr schwachen Jodlösung behandelt oder noch besser, wenn man die in einem Wassertropfen verteilte Hefe ganz kurze Zeit in der Kälte Joddämpfen aussetzt. Sobald Jod im Ueberschuß vorhanden ist, wird die Färbung intensiv braun.

Mit steigender Temperatur nimmt die Intensität der Färbung schrittweise ab. Während aber die übrigen Glykogene bei 58—60° schon fast entfärbt sind, besitzt das Hefeglykogen noch eine braune Farbe etwa entsprechend derjenigen einer 1-proz. Jodlösung.

Bei 63—65° ist die Färbung bedeutend schwächer; bei 72—73° ist das Hefeglykogen vollständig entfärbt.

Beim Abkühlen erscheint die Färbung wieder, und zwar mit derselben Verzögerung wie bei den übrigen Glykogenen. Diejenigen Substanzen, welche die Intensität der Färbung des Glykogens modifizieren, üben auch einen Einfluß auf den Temperaturgrad aus, bei welchem die Entfärbung erfolgt.

Aehnlich wie die Blaufärbung der Stärke durch Jod nur bei Gegenwart von Jodwasserstoffsäure erfolgt, ebenso ist für die Färbung des Glykogens „kombiniertes“ Jod in bestimmter Menge notwendig. Die Resultate der meisten Versuche lassen sich damit erklären, daß man eine bestimmte, leicht zerfallende Verbindung des Jods mit dem Glykogen annimmt. Die Abnahme der Färbung unter dem Einfluß von Wasser, bestimmter anderer Körper sowie der Wärme findet in einer partiellen Zersetzung eine Erklärung.

Alle Thatsachen sprechen nach dem Verf. dafür, das die Jodverbindungen der Kohlehydrate nur Lösungen des Jods in diesen Körpern darstellen, jedoch nicht Lösungen in dem gewöhnlichen Sinn. Es handelt sich vielmehr um eine Fixierung des Jods durch die Moleküle der Stärke oder des Glykogens, also um eine „Absorptionserscheinung“. Die Färbung mittelst Jods kann auch als eine „trockene Lösung“ betrachtet werden.

Unterscheidet sich also die Jodverbindung des Hefeglykogens von den übrigen, so erleidet es unter dem Einfluß des Wassers, des Alkohols, sowie gewisser Salze die gleichen Dissociationen wie die Jodverbindungen der anderen Glykogene; alle verhalten sich unter identischen Bedingungen in gleicher Weise.

Die Hefe ergab nach einer von dem Verf. angegebenen Methode einen Gehalt an Glykogen von 31 Proz.; jedenfalls enthält dieselbe aber noch mehr.

In Beziehung auf gewisse Charaktereigentümlichkeiten der Glykogene bestehen, wie erwähnt, einige geringe Unterschiede. So haben die getrockneten Präparate nicht immer das gleiche Aussehen; dasselbe wechselt auch bei dem gleichen Glykogen nach der Darstellungsweise. Außerdem läßt sich das Glykogen von Amanita durch Alkohol nicht in so leichten Flocken fällen wie dasjenige von Boletus und vom Lapin; die Fällung gestaltet sich viel besser, wenn die Menge des Alkohols vermehrt wird.

Zwei Eigentümlichkeiten trennen das Glykogen der Hefe etwas von allen anderen Glykogenen: die Opalescenz und die durch Jod hervorgerufene Färbung. Die Opalescenz ist bei diesem schwächer bei den anderen.

Diese Unterschiede sind jedoch nicht beträchtlich; gleichwohl möchte der Verf. dieselben nicht äußeren Ursachen zuschreiben, sondern sie vielmehr als der Natur des Kohlehydrates selbst inhärent als betrachten.

Alle Charaktere des Glykogens bieten also eine gewisse Zufälligkeit und keiner ist ihm ausschließlich eigen.

Die Frage nach der Mehrheit der Glykogene ist also sehr schwer zu beantworten, umsomehr da unter dem Namen Glykogen auch verschiedene Gemenge angegeben sind. Ein Glykogen muß unbedingt die Zusammensetzung eines Kohlehydrates besitzen, aber seine sonstigen Eigenschaften haben nur eine relative Bedeutung, insofern als die eine oder die andere einmal ausbleiben kann. Diese Charakterunregelmäßigkeiten finden eine leichte Erklärung, wenn man ursprünglich nur ein einziges Glykogen annimmt, welches sich mit den Verhältnissen allmählich ändert, polymere Verbindungen bildet; möglicherweise handelt es sich auch um isomere Körper.

H. Will (München).

Lindner, Paul, Die Reinhefe in der Preßhefefabrikation und in der Kornbrennerei. (Brennerei-Zeitung. Bd. XIII. 1896. p. 1649.)

Während in der Brauindustrie die Reinzuchthefe schon seit Jahren zur allgemeinen Anerkennung gekommen ist und auch in der Kartoffelspiritus- und Weinfabrikation bereits Erfolge zu verzeichnen sind, haben die Preßhefefabrikation und die Kornbrennerei bis jetzt so gut wie keine Vorteile aus der Hansen'schen Züchtungsmethode ziehen können. Bisher hat es sich in Bezug auf die beiden zuletzt genannten Gebiete fast nur um Laboratoriumsversuche gehandelt. Die Brennereihefe Rasse II, die im großen Maßstabe in der Hefenzuchtanstalt des Vereins der Spiritusfabrikanten in Deutschland gezüchtet wird, und gegenwärtig den größten Teil der deutschen Kartoffelbrennereien mit Anstellhefe versorgt, stammt aus einer Brennerei, die ihre Anstellhefe aus einer Preßhefenfabrik bezogen hatte. Aus der seinerzeit eingesandten Maische konnten drei verschiedene Heferassen isoliert werden. Rasse II, dem obergärigen Frohbergtypus angehörig, ferner eine Hefe,

welche die β Isomaltose Bau's nicht vergärt, also den obergärigen Saaztypus repräsentiert und schließlich eine nur Dextrose vergärende Hefe. Weshalb letztere Heferasse neben den anderen ihr Fortkommen findet, erklärt sich daraus, daß Maltose nicht als solche direkt vergoren wird (Fischer), sondern erst durch ein bestimmtes Enzym in Dextrose invertiert wird. Da die Maltose nicht vergärende Hefe dieses Enzym nicht besitzt, bereiten jene für sie die Dextrose, welche sie nun weiter mit zerlegen kann. Die drei Rassen zeigen wohl bezüglich der Gestalt der Zellen ebenfalls Unterschiede, man würde aber außer stande sein, wollte man in einem Gemische derselben mit dem Mikroskope mit Bestimmtheit entscheiden, welche Zellen der einen oder der anderen Rasse angehören. Ein und dieselbe Heferasse kann, je nachdem sie unter verschiedenen Bedingungen gewachsen ist, sich gestaltlich ändern. An Stelle von runden, eiförmigen Zellen treten oft langgestreckte; man könnte fast die Anwesenheit von Kahmhefen behaupten wollen. Bei der Einführung der Reinhefe in den Brauereien hat es lange gedauert, ehe die Praktiker von dem alten Dogma, die normale Kulturhefe besitze nur runde Zellen, abzubringen waren. Wenn Rasse II längere Zeit mit Luft in Berührung gestanden hat, so sind wurstförmige, bohnenähnliche Zellen gar nicht selten. Die frische Reinzucht bietet mikroskopisch in Bezug auf die Form nicht immer ein gleichmäßiges, zufriedenstellendes Bild. In dem Brennereigewerbe scheint die Sache einen ähnlichen Kampf wie ehedem in der Brauerei zu kosten, bevor der Glaube an die Unfehlbarkeit des mikroskopischen Hefenbildes abgethan ist. Verf. weist auf einen Artikel „Die gute alte Preßhefe“ in No. 45 des „Alkohol“, Jahrg. 1895, der eine Entgegnung auf Delbrück's gleichbetitelte Abhandlung darstellt und zeigt, indem er jene Ausführung treffend kritisch beleuchtet, „wie sehr man noch in den Kinderschuhen der biologischen Wissenschaft herumtappt.“ Der Verf. des betr. Aufsatzes will in der Berliner Rasse II (Preßhefe) auf 96 Zellen 17 Kahmhefezellen, „Kahnpilze“, wie sie dort sonderbarerweise genannt werden, gefunden haben. Daraufhin untersuchte Lindner eine 3 Wochen lang in einer Blechbüchse aufbewahrte Hefe der Rasse II, konnte aber auf hunderttausende von Kolonieen dieser Hefe weder einen Schimmelpilz noch eine Kahmhefen-, noch eine Bakterienkolonie finden. Lindner glaubt daher, annehmen zu dürfen, daß die mutmaßlichen Kahmhefezellen jener Probe nichts weiter als Zellen der Rasse II waren.

Wenn ferner in jenem Aufsatze der Wert der Reinhefe insofern auf das Niveau der gewöhnlichen Preßhefe herabzudrücken gesucht wird, weil die Luftfilter keine absolut keimfreie Luft liefern und im Großbetriebe nicht so reinlich gearbeitet werden kann, wie im Laboratorium, so zeigt Lindner, daß dieser Ansicht ein großer Rechenfehler zu Grunde liegt. Wird die höchste Keimzahl 100, die im Monate März — in anderen Monaten nur 2 bis 20 — für das Möllersche Luftfilter der Berliner Anlage pro 1000 l Luft gefunden wurde, der Berechnung zu Grunde gelegt, so berechnen sich bei einer weiteren Annahme einer 100fachen Vermehrung der Keime, die in diesem Falle lauter Hefenkeime sein mögen — in Wirklichkeit waren es zumeist Sarcinen und Schimmelpilzsporen, die in der lebhaft gärenden

Würze nur schwer oder gar nicht auskeimen — bei einer Hefenernte von 100 kg 60 Millionen fremde Hefezellen, das sind ungefähr so viel als ein Arbeiter, welcher Hefe verpackt, gut unter einem Fingernagel beherbergen kann. Wird noch angenommen, aus der Luft des Gärlokales kämen ebensoviel Keime hinzu wie durch das Möller'sche Filter, was sehr unwahrscheinlich ist, da der emporsteigende Luftstrom das Einfallen der Keime hindert und die Luft derart mit Wasserdampf gesättigt ist, daß die Keime infolge der Wasseranziehung schwer werden und zu Boden fallen, so hätte man immer noch nicht eine Infektion, die der Rede wert ist. Ganz anders stellt sich aber die Sache, wenn wir als Anstellhefe ein Gemisch von verschiedenen Heferassen haben. Hier kann es leicht vorkommen, daß eine anfangs in der Minderheit vorhandene Rasse die Oberhand gewinnt und schließlich die erstere gänzlich unterdrückt. Durch bestimmte Gärführung können Rassen von gewissem Typus bevorzugt werden. In Böhmen z. B. giebt es viele Brauereien, die Hefe führen, die fast nur dem Typus Saaz angehören, obwohl die stark vergärenden Rassen von Typus Frohberg eine allgemeine Verbreitung besitzen. Aus einer von Delbrück aus Peoria (Amerika) mitgebrachten Hefenprobe, welche aus einer dortigen Brennerei stammte, die das Hefegut so lange sich selbst überläßt, bis es in Gärung kommt, isolierte der Verf. zwei Zellen, die beide dem Typus Saaz angehörten, also wieder schwach vergärende Hefen, während die meisten Hefen unserer Brennereien und Preßhefefabriken dem Typus Frohberg angehören.

Preßhefen haben zuweilen bis 30 Proz. und mehr Kahmhefe. Eine der Ursachen ist wahrscheinlich in der mangelhaften Beschaffenheit der Malze einzelner Jahrgänge zu suchen. Bei unreiner Aussaat kann sehr leicht eine fremde Hefe überwuchern, während eine reine Hefe eine bedeutend größere Garantie bietet, längere Zeit ihre botanische Natur beizubehalten. Ferner kommen einer einheitlichen Rasse gewisse Eigenschaften zu, die auch bei wechselnden Verhältnissen festgehalten werden. Die Trauben-, Obst- und Beerenweine werden durch Anwendung besonderer Reinhefen, zunächst Weinhefen, bouquetreicher gemacht. (Die Ursache, weshalb die Reinzuchthefe bisher keinen Eingang in die Preßhefefabrikation gefunden hat, liegt nach des Ref. Untersuchungen und Erfahrungen weniger darin, daß noch keine geeigneten Heferassen hätten ausfindig gemacht werden können, als vielmehr darin, daß bei der jetzigen Arbeitsweise im Großbetriebe mit Reinzuchthefe kein haltbares Produkt zu erzielen ist. Die mit Reinzucht hergestellten Hefen werden bald blau, nehmen einen unangenehmen Geruch an, werden weich und schließlich flüssig. Solange die Industrie sich nicht von den niederen Maischtemperaturen lossagt, also nicht auf eine keimfreie Maische bezw. Würze hinarbeitet, wird man auch mit Reinzuchthefe keine Erfolge erreichen. Versuche, die der Ref. nach dieser Richtung angestellt hat, ließen dies deutlich erkennen. Aus den Ergebnissen mag erwähnt sein, daß die, von der einzelnen Zelle ausgehend, nur in sterilen Nährsubstraten herangewachsene Reinzuchthefe den Bakterien gegenüber äußerst empfindlich ist. Die Hefe erleidet zwar in den bakterienhaltigen Maischen bezw. Würzen, wenn sofort eine energische Gärung eintritt, keine

Einbuße an ihrem Gärvermögen und an ihrer Vermehrungsfähigkeit, wohl aber treten unter dem Einflusse des Konkurrenzkampfes mit den Bakterien in morphologischer und physiologischer Beziehung infolge des ungewohnten Kampfes in der Hefe Veränderungen ein, ein Zustand, den man als eine „Krankheit“ der Hefe bezeichnen könnte. In diesem „krankhaften“ Zustande fällt die Hefe äußerst rasch dem Zerstörungswerke der Spaltpilze anheim. D. Ref.)

Die Kornbrennerei muß Rassen ausfindig machen, die hohe Alkoholausbeuten geben und dabei jene Bouquetstoffe bilden, welche dem Getreidebranntweine einen höheren Wert verleihen. Versuche des Verf.'s haben bei mit verschiedenen Heferassen vergorenen Kornmaischen in abdestilliertem Alkohol scharfe Unterschiede erkennen lassen. Auch die Hefeausbeute hat sich nicht allein als eine Funktion der chemischen Zusammensetzung der Würze, sondern auch als eine von der Rasse abhängigen Größe ergeben. Es gilt daher, für die Preßhefefabrikation nach Heferassen zu suchen, die in dem gegebenen Nährsubstrat eine möglichst hohe Hefenernte liefern und dabei auch noch in der Bäckerei erfolgreich wirken. Der Einfluß der Reinhefe würde sich namentlich noch insofern geltend machen, als die Hefe bedeutend haltbarer würde und weitere Transporte besser aushalten könnte. Reinlichkeit im Betriebe und eine der jeweiligen Heferasse entsprechende Gärführung werden zwei der wichtigsten Punkte mit sein, die beobachtet sein wollen, wenn ein allseitiger Erfolg erzielt werden soll. Munsche (Wandsbeck-Hamburg).

Mangin, L., Recherches sur les Péronosporées. (Extr. d. Bull. d. l. Soc. d'hist. nat. d'Autun. T. VIII. 1895. p. 58.)

Die Membranen der Peronosporeen unterscheiden sich nach den Untersuchungen des Verf.'s von denjenigen aller anderen Pilze und bestehen fast ausschließlich aus einer innigen Vereinigung von Cellulose und einer zuerst in den Verstopfungen der Siebröhren nachgewiesenen Substanz, für die Verf. bereits früher den Ausdruck, Callose eingeführt hat. Die abweichende chemische Konstitution dieser Membranen macht es nun auch möglich, dieselben durch Anwendung von Doppelfärbungen anders zu färben, als die der Wirtspflanzen, so daß auch in dicken Schnitten eine sehr genaue Verfolgung der in denselben enthaltenen Mycelien möglich war. Verf. benutzt zu diesen Färbungen nach einer im Original ausführlich beschriebenen Vorbehandlung mit Salzsäure und chlorsaurem Kali sowie Kali- und Natronlauge vorwiegend Gemische von Anilinblau und Orseillin BB oder Vesuvin oder von Benzoazurin und Rosazurin.

Von den Beobachtungsresultaten des Verf.'s sei hervorgehoben, daß nach denselben das Mycel der Peronosporeen eine große Unregelmäßigkeit zeigt und namentlich in der Nähe der Gefäßbündel der Wirtspflanze häufig blattartige Aeste bildet. Außerdem wurden häufig verschiedenartig gestaltete Calloseauflagerungen an den Innenseiten der Membranen beobachtet, die nicht selten zu einer vollständigen Zerklüftung der Protoplasten führen.

Die sehr verschiedenartig gestalteten Haustorien sind von

einer aus reiner Callose bestehenden Scheide umgeben, die dieselben vollständig gegen das Innere der Zellen der Wirtspflanze abschließt. Die Wände der Konidienträger bestehen allein aus reiner Cellulose und sind auch nach Außen hin nicht durch eine kutikularisierte Membranschicht abgegrenzt. Auf der Innenseite der Wände finden sich aber auch hier aus Callose bestehende Ablagerungen, es gehören hierher auch die schon mehrfach in denselben beobachteten Querwände. Callose befindet sich schließlich auch an den Anheftungsstellen der Sporen und spielt bei der Loslösung derselben eine Rolle. Die Oosporen sind von einer in Endo- und Exospor gegliederten Membran umgeben. Das Endospor besteht stets aus einer innigen Vereinigung von Cellulose und Callose, das Exospor besitzt eine sehr verschiedenartige Skulptur und besteht bei manchen Arten ganz aus Stickstoffverbindungen, bei anderen auch aus Cellulose oder einer Vereinigung von Cellulose und Callose.

In den bei manchen Arten häufig beobachteten abortierten Oogonien beobachtete Verf. Calloseanhäufungen, die das Lumen derselben mehr oder weniger vollständig erfüllten.

A. Zimmermann (Berlin).

Arthur, J. C. and **Bolley, H. L.**, Bacteriosis of Carnations. (Agricult. Experiment Station of the Purdue University. Lafayette Ind. Bull. Vol. VII. No. 59. March 1896.) 38 p. 4 Taf. z. T. koloriert.

Die Verff. haben als Urheber einer Krankheit der Gartennelken (Kulturform von Dianthus Caryophyllus), die von der durch Seymour 1889 beschriebene Nelkenkrankheit durch Septoria Dianthi verschieden ist, einen Spaltpilz, Bacterium Dianthi n. sp., erkannt, der allenthalben an den kranken Exemplaren sich findet und von der Reinkultur aus bei künstlicher Infektion wieder die Krankheit hervorruft. Die Bakteriosis der Nelken hat ihren Sitz in den Blättern, an denen anfangs gelbliche Fleckchen auftreten, beeinflußt aber den Wuchs der ganzen Pflanzen und hemmt die Blütenbildung.

Das Bacterium Dianthi ist ein spezifischer Caryophyllaceenparasit, der spontan besonders die Gartennelken (carnations) aufsucht und von den Verff. in den Gewächshäusern von Indianopolis, La Fayette in Indiana, ferner in Buffalo, Boston, New York, Toronto (Can.), Chicago, Lincoln (Neb.) nachgewiesen ist. Die wilde Form von Dianthus Curthusianorum, ferner D. plumarius, D. japonicus, D. chinensis, D. barbatus waren aber gleichfalls für die Krankheit empfänglich bei künstlicher Infektion, während die Infektion bei Nicht-Caryophyllaceen stets mißlang. Schwächliche und ältere Varietäten der „carnations", wie die Varietäten „Buttercup, Sunrise, La purité" wurden leichter befallen als andere. Die Reinkulturen gelangen auf festen und flüssigen Böden, wie im hängenden Tropfen. In Gelatine, Agar-Agar wie auf Kartoffeln fand eine üppige Entwickelung statt, die Kolonieen zeigten

später eine lebhafte hellorangerote Färbung. In den Abbildungen sind die kranken Pflanzen (koloriert), die Gelatinekulturen (Fig. 3, 4, 5 heliotypisch bunt), die Formen der Einzelbakterien und Kolonieen in den Kulturen und der Nährpflanze, die anatomischen Veränderungen der Nährpflanze, photographische Ansichten von Nelkenhäusern dargestellt. — Da die Angriffsstellen des Bakteriums die Stomata und die Stiche der Aphiden sind, ergeben sich als Präservativmittel Trockenhaltung der Blätter und Fernhalten der Blattläuse. Die Bewässerung findet von unten, unter den zur Stütze der Blätter in den Zwischenreihen angebrachten Λ-förmigen Drahtgestellen statt. Besprengung von oben soll nur gelegentlich unter Anwendung sehr verdünnter desinfizierter Lösungen stattfinden.

Ludwig (Greiz).

Hibsch, J. E., Ueber den Rübenrüsselkäfer (Cleonus punctiventris Germar). (Oesterr.-Ung. Zeitschrift für Zuckerindustrie u. Landwirtschaft. 1896. p. 11.)

Der Käfer, welcher vor einigen Jahrzehnten in Oesterreich-Ungarn noch sehr selten aufgetreten ist, gehört gegenwärtig zu den hervorragenden Rübenschädlingen, trotzdem über seine Lebensweise bis in die neueste Zeit wenig bekannt geworden ist. Auf Grund der Beobachtungen Morávek's giebt Verf. eine Beschreibung über die Lebensweise dieses Tierchens, welches bereits zeitig im Frühjahre auf den Rübenfeldern des Vorjahres erscheint und auf die Aecker wandert, wo die junge Rübensaat keimt. Dieselbe kann durch Abbeißen der jungen Keimblätter vollständig vernichtet werden und übt der Käfer sein Zerstörungswerk besonders an ruhigen, wärmeren Tagen (auch Nächten) aus, während er sich sonst bei kühlem Wetter unter Ackerschollen u. s. w. verkriecht. Die Paarungszeit beginnt in Ungarn etwa am 20. April und währt bis Mitte Mai und nach dem 15. Mai ist die Käfersaison eigentlich zu Ende. Die Weibchen sterben nach dem Eierlegen bald ab, während die Männchen noch im Hochsommer sichtbar bleiben, aber zu der Zeit keinen fühlbaren Schaden mehr anrichten können. Mitte Mai treten die Larven auf, welche unterirdisch an den Rüben nagen. Ende August verpuppen sich die Larven und noch im Herbste entkriechen die Käfer. Die Käfer der neuen Generation halten sich vorzugsweise im Boden auf und scheinen gleichfalls an den Wurzeln der Rübe zu nagen. Bei Eintritt des Frostes gehen die Käfer in die Tiefe zur Ueberwinterung und verlassen erst im Frühjahre den Boden. Das Einsammeln und Vernichten der Käfer durch Kinder ist kostspielig, während hingegen durch die folgende Methode von Morávek die Rübensaat stets gerettet wurde. Der Rübenacker wird so vorbereitet, daß eine vollständig ebene und schollenfreie Ackerfläche resultiert. Dann wird der Samen mit einer Sämaschine gesäet, die gleichzeitig reichlich Dünger mit dem Samen unterbringt. Die Rüben entwickeln sich rasch und wenn sich die Käfer zeigen, werden Truthühner auf das Feld gebracht, welche alle Käfer, denen jeder Schlupfwinkel auf dem glatten Acker fehlt, auflesen.

Stift (Wien).

Experiment Station Record. (U. S. Department of Agriculture. Vol. VII. 1895. No. 3.)

Am reichhaltigsten ist der Abschnitt „Field Crops“, welcher außer den Berichten verschiedener Stationen über Kulturversuche mit Feldfrüchten im engeren Sinne auch die Anpflanzungen von Tabak und Futtergräsern berücksichtigt. Busse (Berlin).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Lamson, H. H., Spraying experiments in 1894. (New Hampshire Agricultural College Experiment Station. Bulletin 27. April 1895.)

Verf. beschreibt die Erfolge mit der Behandlung mehrerer Sorten von Obstbäumen mit Bordeaux-Mischung. Versuche bei Birnbäumen zeigten eine Vermehrung der Ernte von 16 bis 47 Proz., solche bei Aepfelbäumen von 16 bis 21 Proz. Die Behandlung beugt dem Scab, Fusicladium pyrinum und dendriticum vor, desgleichen dem Wachstume von Flechten und Moosen auf den Stämmen.

Early Blight (Macrosporium Solani) der Kartoffeln, mit Bordeaux-Mischung behandelt, wurde vermindert, so daß eine Mehrernte von 33 Scheffeln von einem Acker erfolgte.

Kurze Bemerkungen über die Behandlung der Kartoffeln gegen Late Blight (Phytophthora infestans) und gegen den Scab (Oospora scabies Thaxter) folgen. Verf. empfiehlt die folgende Zusammensetzung für die Bordeaux-Mischung: Kupfersulfat 1 Pfund, frischer Leim $^2/_3$ Pfund, Wasser 10 Gallonen.

Fusicladium wird in dem Artikel abgebildet.

Atkinson (Ithaca, N. Y.).

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

1896. Centralblatt Bd. II. No 13.
für Bakteriologie und Parasitenkunde.
II. Abteilung.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Krakau, Prof. Dr. M. W. Beyerinck in Delft, Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen, Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Bonn, Privatdocent Dr. Wehmer in Hannover, Dr. Weigmann in Kiel, Dr. Wilfarth in Bernburg und Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

II. Band. Jena, den 31. Juli 1896. No. 14.

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Original-Mittheilungen.

Bakterien-Gesellschaften.

Von

M. Jegunow, Assistent

in

Nowo-Alexandria.

2. Artikel [1]).

Mit 2 Tafeln.

Neue Bakterienplatte.

Die Einheitlichkeit des Organisationstypus der von mir entdeckten Schwefelbakterienplatten bei sehr verschiedenartigen Formen der dieselben zusammensetzenden Organismen, welche in Menge in den Limanen und im Schwarzen Meere gefunden sind [2]), veranlaßten

1) Jegunow, Bakteriengesellschaften. (Centralbl. für Bakt. und Parasitenk. II. Abt. Bd. II. 1896. No. 1.)

2) M. Yégounow, Résultats d'un voyage entrepris sur la mer noire et dans la

mich, eine rein mechanische Ursache ihrer Organisation vorauszusetzen. Einige Erscheinungen, welche durch unmittelbares Beobachten der Bakterienansammlungen entdeckt worden sind, wie z. B. der Charakter der Bewegungen einzelner Organismen in den Fontainen, im Kerne der kometenähnlichen Figuren — könnten sogar als wirbelartige Bewegungen angesehen werden.

Eine Zeit lang war ich geneigt, eben eine solche Erklärung zu geben, obgleich mit einigem Vorbehalt.

Um so angenehmer war es, Fakten zu begegnen, welche unsere Vorstellung auf diesem Gebiete der Erscheinungen vervollkommnen. Nachstehend beschreibe ich neben dem Bau der neuen Platte selbst auch eine sehr originelle und mir noch nicht begegnete Art der Verwandlung einer glatten Platte in eine Platte, welche durchweg mit Fontainen bedeckt ist.

Die Kulturen in den Cylindern (ihr Durchmesser — 28 und 32 mm, Höhe — 200 und 220 mm, Höhe der Wassersäule ungefähr — 150 mm) wurden am 13. Jan. aus angeschossenem und nicht durchwaschenem Salz aus dem Chodshibei'schen Liman zubereitet. Dieses Salz war von mir in den letzten Tagen des August 1895 gesammelt und enthielt viele erdige Teile. Während dieser Zeit (4 Monate) wurde es im feuchten Zustande in einem gut verschlossenen Blechkästchen aufbewahrt. Die Lösung bestand aus 2—4 g Salz auf 100 ccm destilliertes Wasser; nach der Auflösung des Salzes blieb am Boden der Gefäße ein bedeutender Erdrest übrig. Andere Mineralstoffe wurden nicht hinzugefügt, ebenso wie auch keine organischen Stoffe. Der starken, zuweilen sogar prächtigen Vermehrung der Schwefelbakterien zufolge, konnte man bemerken, daß, wenn sie auch organische Stoffe nötig haben, sie dieselben in genügender Menge von den Erdteilen erhalten, welche durch die Salzkrystalle in die Kultur gebracht werden; diese Quantität ist übrigens sehr gering.

38—40 Stunden nach der Auflösung des Salzes waren bei einer 4—5fachen Vergrößerung dichte, glatte und grobkörnige Platten zu bemerken. Die Dicke der Platte überstieg nicht 0,08 mm.

Organismen. Die Platte besteht hauptsächlich aus zwei Schwefel-Bakterien-Species, einem groben Organismus, welchen ich mit α bezeichne, und einem kleineren, β. Andere Organismen sind nur in unbedeutender Menge anzutreffen.

Schwefelbakterie α. Länge 4,5—9 μ; Breite 1,4—2,3 μ; beweglich, leicht gekrümmt, mit feinkörnigem Plasma und recht großen Schwefelkörnern [1]). Farblos.

Schwefelbakterie β. Länge 2,5—5 μ; Breite 0,6—0,8 μ;

---

presqu'île de Crimée pendant l'été 1895. (Annuaire géolog. et minéral. de la Russie. T. I. Liv. 1. (première moitié). 1896.)

1) Gewöhnlich ist an einem Ende, welches ein wenig angeschwollen ist, ein grober ovaler, glänzender Kern, welchen ich bis jetzt noch nicht bestimmt habe. Der Bau des Organismus ist viel komplizierter, als ich ihn hier beschreibe. Endlich können einige Erscheinungen (bis jetzt nur zwei), falls ihr weiteres Studium dieses bestärken wird, die Stellung der Schwefelbakterien in der Systematik verändern. Daher kann ich nicht bei der Morphologie verweilen, weil dieses mich vom Ziele meiner Forschungen ablenken würde.

beweglich, mit 1—2 Krümmungen, besteht aus einer Reihe glänzender Schwefelkörner. Farblos.

Am Anfange der Kultur ist in der typischen „neuen Platte“ der α-Organismus vorherrschend, nachher der β-Organismus.

Im Laufe von 18 Tagen waren die Platten sehr dicht (dichter als die typischen „Fontainenplatten“), scharf gezeichnet und von geringer Dicke, als ob ein Blatt weißes Seidenpapier die Wassersäule in 2 Teile teilte. Die folgenden Erscheinungen verliefen in der Platte so schnell, daß mir nichts anderes übrig blieb, als eine Serie aufeinanderfolgender Photogramme aufzunehmen und dann nach diesen die Erscheinungen zu studieren. Das Studium nach den Photogrammen wurde, wie wir später sehen werden, durch unmittelbare mikroskopische Untersuchungen der neuen Platte vervollkommnet und geprüft. Nachstehend beschreibe ich die aufeinanderfolgenden Stadien der Veränderungen in der Platte des V. Cylinders.

Mechanismus der Veränderungen in der Platte. Makroskopische Analyse. Am 19. Tage um 9 Uhr 40 Minuten morgens bemerkte ich, daß sich an der linken Seite der Platte, in der Nähe der Gefäßwand, einige (3—5) Quästchen (Fontainen) gebildet hatten. Die Oberfläche der Platte war auch nicht mehr ganz gleichartig, und zwar konnte man, wenn das Auge beinahe in der Fläche der Platte war oder ein wenig höher zu stehen kam, eine leichte Wellenförmigkeit derselben bemerken.

Diese Erscheinung war so zart, daß ich nicht endgültig entscheiden konnte, ob sie thatsächlich von einer Wellenförmigkeit oder ob diese zarten Schatten und Scheine von einer ungleichen Verteilung der Organismen herrührten. Möglich war das eine, wie das andere, weil ich schon oft folgendes beobachtet habe: 1) eine unzweifelhafte Wellenförmigkeit, welche ich als erstes Zeichen der Komplikation der Platte ansehe, und 2) die so von mir benannten „Muster-“ oder „Figuren“-Platten (vortreffliche Photogramme derselben besitze ich), welche von einer ungleichen (der Zahl nach, aber zuweilen auch dem Bestande nach, wegen des Vorherrschens einer Bakterienart über die andere in verschiedenen Stellen einer und derselben Platte) Organismenansammlung in der Plattenfläche (die Beschreibung derselben wird in der nächsten Zukunft erfolgen) herrühren. Woher diese Wellenförmigkeit auch stammen mag, so ist sie doch die erste Erscheinung aktiver Kräfte in der Platte, welche ich bis jetzt vergebens zu ergründen gesucht hatte und deren effektvolles Erscheinen sich vor uns im Folgenden entwickeln soll.

10 Uhr morgens. In der Platte sind einige noch nicht scharf ausgeprägte Veränderungen wahrzunehmen.

11 Uhr. Im Vordergrund der Platte haben sich inklusive der 3—5 früheren Fontainen noch neue Fontainen und „Ritzen“ (oder sehr scharf ausgeprägte Spalten in der Platte) gebildet, welche ich bis jetzt noch nicht beobachtet hatte. Diese „Ritzen“ sind fast organismenfrei, das sind echte Thüren in der Platte.

Die Fontainen, sowohl die zuerst entstandenen, als auch die, welche sich später gebildet haben, sind von sehr sonderbarer Form.

Weiter wurde die Erscheinung komplizierter und noch ver-

wickelter; die Veränderungen folgten so schnell aufeinander, daß es nicht möglich war, dieselben zu beobachten; endlich verhinderte auch meine Nähe einen regelrechten Gang der Erscheinungen. Mir blieb daher nichts anderes übrig, als eine Reihe von Photogrammen aufzunehmen.

Um 11 Uhr 20 Min. wurde das 1. Photogr. aufgenommen
„ 11 „ 40 „ „ „ 2. „ „
„ 12 „ 10 „ „ „ 3. „ „
„ 12 „ 40 „ „ „ 4. „ „
„ 1 „ 30 „ „ „ 5. u. 6. „ „

Der vorher beschriebene Bau der Platte (um 11 Uhr aufgenommen) hat sich während der Aufnahme des ersten Photogramms (d. h. im Verlaufe von 20′) nicht sehr verändert (siehe Photogramm No. 1), und zwar geschah 1) der Prozeß der Fontainenbildung in der Nähe der zuerst gebildeten Fontainen (in diesem Sinne ist dieser Teil der Platte der älteste. Tafel III, Figur 1*a*); 2) fast $^1/_4$ der Platte ist schon einer Art Veränderungen unterworfen; man kann alle Stadien dieser Veränderungen — von der Bildung von Ansammlungen bis zu den Fontainen — unterscheiden. Um unmittelbar die Stadien hinsichtlich der Veränderungen in der Zeit zu beobachten, gebe ich eine vergleichende Beschreibung zweier aufeinanderfolgender Photogramme (eine Zwischenzeit von 20′).

Photogramm 1 ($11^h 20'$) und Photogramm 2 ($11^h 40'$).

In diesen Photogrammen ist in der Gegend *a* die Fontainenbildung beendet; im Vordergrunde des Photogramms 1 ist bei der Bildung der Fontainen No. 4 und 5 und der Ansammlung *c* ein Teil der Platte *b* an der Wand kleben geblieben; auf dem Photogramm 2 zerstreut sich dieser Teil auf der Plattenfläche, weil er nicht imstande ist, wegen Mangels an Stoff, eine selbständige Fontaine zu bilden, und füllt die undichten, oder sogar die fast organismenfreien Stellen der Platte (Ritzen) aus, und wird auch zur Vergrößerung der naheliegenden Fontainen und Ansammlungen verwendet. Ebensolche, nur bedeutend kleinere Reste der Platte, sind an einigen Stellen der Gefäßwand selbst zu bemerken.

Wir wollen nun die Ansammlungen *b* und *e*, die Fontaine 6 und 7 und die Ansammlungen *e* und *f* vergleichen. Auf dem Photogramm 1 sind diese Bildungen noch nicht vollständig von einander geschieden, so sind die Ansammlungen *c* und *d*, — welche man bei einem flüchtigen Blicke für Bildungen annehmen kann, die sich aus der Plattenfläche erheben, während sie genau in derselben liegen —, ebenso auch alle benannten Bildungen durch eine scharf ausgeprägte, sehr dichte (wellenförmige) Schlangenlinie verbunden, welche aus sehr dichten Ansammlungen großer α-Organismen besteht. Die Linie, welche sich in den Zwischenräumen der Ansammlungen und Fontainen verdünnt, verschwindet hinter der Ansammlung *f* in der gleichmäßigen Dicke der Platte. Die Ansammlungen *c* und *d* sind noch lange nicht abgesondert; von der hinteren Seite sind sie noch mit den Fontainen *i* und *l* und der Ansammlung *h* verschmolzen, welche zwischen *d* und der Fontaine *s* liegt. Die dieselben verbindenden Stellen fangen an merklich undichter zu werden. In denselben

kommt eine dichte Linie, z. B. sehr deutlich in *h*, zum Vorschein, welche parallel der ersteren läuft und die 2. Reihe von Fontainen und Ansammlungen in sich einschließt.

Vergleichen wir diese Bildungen auf dem Photogramm 2. Die Ansammlungen *c* und *d* sind gänzlich von einander geschieden und haben sich abgerundet; *c* ist ebenfalls gänzlich von den Fontainen *i* und *l* getrennt; die letzteren haben sich ebenfalls vollständig von den dieselben umgebenden Ansammlungen abgesondert. Also ist *c* vollständig und *d* fast vollständig von allen umgebenden Ansammlungen getrennt; die Fontainen 6 und 7 sind auch vollständig getrennt: Fontaine *b* und Ansammlung *d* sind noch durch einen sehr schmalen Streifen einer dichten Organismus-Ansammlung verbunden.

Die 2. Linie oder der 2. Streifen auf dem Photogr. 1 umfaßt (oder teilt ab) folgende Ansammlungen und noch nicht vollendete Fontainen: *l*, *i*, *h*, und *g*; rechts verliert sich auch diese Linie in der gleichmäßigen Dicke der Platte. Photogr. 2 beschreibe ich in derselben Reihenfolge, d. h. von links nach rechts; in der 2. Linie haben sich die Ansammlungen *l* und *i* zu vollendeten Fontainen ausgebildet; alles andere ist ohne wesentliche Veränderung geblieben. Auf beiden Photogrammen kann man außerdem noch eine 3. und 4. Linie konstatieren. Ich halte es nicht für notwendig, dieselben zu beschreiben, weil es eine Wiederholung des Vorigen wäre.

In Uebereinstimmung mit einer solchen Reihenfolge des Zerfallens der Platte in eine Reihe viel dichterer Ansammlungen als die Platte selbst ist, sind auch die Ritzen ziemlich regelrecht verteilt, was besonders deutlich auf dem Photogr. 1 in perpendikulärer Richtung zu den von uns soeben angegebenen und besprochenen Linien zu bemerken ist. Wenn wir unsere Aufmerksamkeit darauf lenken wollen, wie eine Ansammlung sich von einer anderen trennt, so können wir im Gebiete der Ritzen sehr deutlich sehen, daß eine Ansammlung sich von einer anderen ebenso trennt, wie Flüssigkeitstropfen.

Auf den zwei folgenden Photogrammen, welche nach je 30 Min. aufgenommen (um 12^h 10′ und 12^h 40′) worden sind und die ich hier nicht wiedergebe, ist der Zerfallsprozess in einzelne Ansammlungen schon viel weiter vorgeschritten — der ganze Vordergrund der Platte ist schon durchweg mit Fontainen bedeckt.

Auf dem letzten Photogramm (siehe Taf. IV, Fig. 3), welches um 1 Uhr 30 Minuten aufgenommen ist, ist die ganze Platte mit Fontainen bedeckt. Folglich hat sich die sehr dichte Platte in einem Zwischenraum von 2—$2^1/_2$ Stunden in eine zart durchbrochene Platte verwandelt, die durchweg mit Fontainen bedeckt ist. Dieser Prozess der Verwandlung, welcher von den 3—5 ursprünglichen Fontainen angefangen hat, verbreitet sich allmählich über die ganze Platte immer weiter und weiter, wie irgend eine Kraft oder Ursache mit einer bestimmten Beschleunigung, bis sie fast die ganze Platte eingenommen hat. Aber bald schon fing ein entgegengesetzter Prozeß — die Verwandlung in eine glatte Platte — an; nach 21 Stunden fingen die in den centralen Teilen der Platte gelegenen Fontainen an zu verschwinden und schon nach 24 Stunden verwandelte sich die

ganze Platte wieder in eine glatte und gleichmäßige Fläche. Noch später erschienen von neuem Fontainen, aber vereinzelt und ohne scharf ausgedrückte Erscheinungen in der Platte. Während dieser ganzen Zeit waren keine bedeutenden äußeren Veränderungen zu bemerken; die Zimmertemperatur betrug 20—22 ° C und die Kultur blieb unverändert am früheren Platze stehen.

Auf diese Weise war die Reihenfolge der Plattenverwandlung oder ihr Wuchs folgender: Sie zerfiel in dichte Ansammlungen und diese Ansammlungen verwandelten sich in Fontainen. Die sehr dichte Platte verwandelte sich nach dem Zerfallen in eine zarte, durchbrochene Platte. Diese Veränderungen waren nicht durch Ursachen rein mechanischen Charakters, durch Vergrößerung der Organismenzahl, auch nicht durch andere äußere Faktoren, hervorgerufen, sondern durch irgend eine physiologische Ursache, welche in den Organismen selbst liegt. Die Art und Weise der Verwandlung kann zuletzt durch ihre Einfachheit in Erstaunen setzen. Man muß sich anstatt einer Schwefelbakterienplatte eine Platte aus Oel vorstellen, so würde der Zerfallsproceß der Oelplatte, wegen Cohärenz oder Attraktionskraft der Moleküle zu einander, eben einen solchen und keinen anderen Charakter tragen. Hier sind Kreise — dort Kügelchen — dieses ist nicht wesentlich und befindet sich in der Gewalt des Experimentators, aber das Wesentliche besteht darin, daß hier zwei Ursachen, die Molekularattraktion und das, was wir Chemiotaxis nennen, in ihren Erscheinungen im Raume von einander nicht zu unterscheiden sind.

Wenn wir nicht vor dem Studium meiner Gesellschaften einen genauen Begriff über Chemiotaxis gehabt hätten, wenn uns die Aufeinanderfolge der Erscheinungen in der Platte, welche durch Schwankungen der Chemiotaxis-Spannung oder Kraft hervorgerufen wurden, unbekannt wäre, wie auch die physiologischen Eigenheiten und der mikroskopische Bestand der Platte, so würde die einzige Erklärung die Molekularattraktion sein. Ich halte es für notwendig, folgende hieraus unmittelbar hervorgehende Schlüsse anzuführen: Völlig gleiche Erscheinungen im Raume können durch zwei verschiedene Ursachen herorgerufen werden; im gegebenen Falle ist die eine eine völlig physische, die andere eine physiologische (von stark ausgesprochener chemischer Natur). Eine ähnliche Form von Ansammlungen, d. h. eine abgerundete, würde eine jede Anhäufung lebendiger Individuen auf einer glatten horizontalen Oberfläche um einen stark anziehenden (Impuls von genügender Kraft) Gegenstand oder Erscheinung bilden.

Fontainen. Bisher habe ich noch nichts über Fontainen gesagt. Diese Fontainen sind ein ganz anderer Typus und sind ebenso originell und unterscheiden sich von den von mir in „Bakterien-Gesellschaften“ [1]) beschriebenen wie die soeben beschriebene Platte. Daher gebe ich eine vergleichende Beschreibung der Fontainen.

Die von mir beschriebenen Fontainen der „Fontainenplatte“ in meinem ersten Artikel werden durch folgenden Bau charakterisiert (siehe Taf. IV, Phot. 6 u. 7). Die Basis oder der Trichter der Fontaine

1) Ibidem.

ist durch einen starken Eindruck der Platte gebildet; die Kanten des Trichters sind scharf ausgedrückt und dicht; dieselben verschwinden größtenteils im Gebiete der sehr dichten Achse der Fontaine, d. h. man kann sie nicht verfolgen, als ob sie offene Trichter wären; die Organismen bewegen sich schnell auf und ab längs den Trichterwänden, d. h. sie fließen (gleiten) herunter und bilden eine sehr dichte Fontainen-Achse; in derselben geschieht die Bewegung nach unten bis zu einem Punkte, aber danach biegen die Organismen zur Seite und nach oben ein, so daß man einen entgegengesetzten Strom von verstreuten Organismen erhält, das, was ich in meinem 1. Artikel mit „Regen zur Platte“ bezeichnete.

Außerdem betone ich den Umstand, daß die Trichter von oben nicht **zugedeckt** sind.

Die gerade Linie auf dem Photogramm 6 (Tafel IV), welche alle Trichter zuzudecken scheint, ist nichts anderes, als die Projektion der Platte auf der Gefäßwand, weil das Photogramm die Kultur von der S e i t e aus darstellt. Folglich ist der Trichter unbedeckt, mit scharf ausgeprägten Kanten und mit einer centralen und dichten Fontainen-Achse; man muß noch hinzufügen, daß eine dichtere Organismen-Ansammlung der „Fontainen-Platte“ an der entsprechenden Stelle sofort eine Vertiefung in derselben hervorruft.

Wenn wir jetzt unsere Aufmerksamkeit auf das Photogramm 4 (Tafel IV) lenken, so bemerken wir sogleich, daß die Trichter dieser Fontainen von oben wie mit einem Deckel zugedeckt sind, daß die Wände der Trichter sehr zart und undicht sind; daß sie aus Organismen [aber nicht aus der Platte selbst und auch nicht aus ihren Vertiefungen] bestehen, die von einer dichteren ringartigen Organismen-Ansammlung auf der Platte ausgehen, sich recht weit unter der Platte vereinigen und eine der Fontainenachse analoge (nur analoge) Bildung hervorrufen; daß die Fontaine sehr zarte Umrisse haben und sehr spröde sind und endlich, daß die Organismen-Ansammlungen keine oder nur kaum wahrnehmbare Durchhängungen der Platte hervorrufen, sehr oft aber eine entgegengesetzte Erscheinung — eine Erhöhung in Gestalt einer Wölbung — hervorrufen [Photogramme 1 und 2 (in der Gegend a), Photogr. 3 und die Figuren der III. Tafel]. Es genügt noch nicht, daß die Trichter zugedeckt sind — die sie zudeckenden Stellen haben in ihrem Centrum oft eine dichte und scharf ausgeprägte Ansammlung (Photogr. 4, Taf. IV).

A n a l y s e d e r P l a t t e. Bei der mikroskopischen Analyse (mit meinem horizontalen Mikroskop) begnügte ich mich mit einer 20- und 30-fachen Vergrößerung, indem ich mich bei meinen Beobachtungen, wenn dieses nötig war, durch stärkere Vergrößerungen überzeugte. Eine 20-fache Vergrößerung war hinreichend, weil der Organismus sehr groß (bis 0,01 mm) und bei dieser Vergrößerung als ein grober Flitter zu sehen ist. Weiterhin wird überall, wo die Vergrößerung nicht angegeben ist, die angegebene Vergrößerung gebraucht.

Die Platte ist von weißer Farbe, sehr dicht, kompakt, wie ein Blatt dünnsten Papiers und sehr stabil in Beziehung zur Temperatur und zu den Erschütterungen des Gefäßes, weil in den Verhältnissen meiner Experimente, d. h. bei der Vergrößerung des spezifischen Gewichtes

mit der Tiefe, die flüssige Masse eine bedeutende Stabilität erreicht (das Bestreben der Moleküle, ihre früheren Stellen einzunehmen, ist hier im höchsten Grade ausgebildet [1]). Makroskopisch beobachtet, scheint die Platte körnig; ihre Dicke übersteigt 0,08 mm nicht.

Bei einer 20fachen Vergrößerung ist die Platte grobkörnig, selten durchweg gleich dick, gewöhnlich aber scheint sie rauh; diese Erscheinung rührt von unaufhörlichen, aber kurzen Ansammlungen und Auseinandergehen der α-Organismen her; die Rauheit ist sehr schwach. Man kann auch zugeben, daß diese Erscheinung von der Form des beweglichen und ziemlich großen Organismus selbst abhängt. Außer dieser geringen Rauheit kann man auch andere gröbere Ungleichmäßigkeiten an der Platte wahrnehmen. Den höchsten Punkt dieser Ungleichmäßigkeit stellen die Platten dar, welche ich „Platten mit andauernd erhöhter Chemiotaxis-Spannung" nenne.

Photogr. 5 (Tafel IV) stellt eine solche Platte dar, welche 10 Minuten nach der Entnahme einer Probe mit einer breiten Pipette aufgenommen ist (bis zu dem Augenblick war sie ruhig). Ihr Centrum ist dunkel, d. h. arm an Stoff (er ist vermittelst der Pipette entfernt), aber im Vordergrunde haben sich viele kleine und sehr kompakte Ansammlungen gebildet, welche Erhöhungen und nicht Vertiefungen vorstellen (noch ein Unterschied von der „Bakterien-Platte"). Bei stärkerer Vergrößerung treten diese Ansammlungen genügend scharf ausgeprägt auf dem weißlichen Gesamtgrunde der Platte hervor und ohne Mühe kann man erkennen, daß sie dichte Ansammlungen grober α-Organismen sind [2]). Eine ähnliche Platte erscheint auch nach einer anderen Art von Ruhestörung, z. B. nach dem Experiment des „Trichtergleitens", wenn eine Seite der Kultur der Wärmequelle zugekehrt ist, um eine Neigung der Platte hervorzurufen. Zuweilen ist es interessant, zu beobachten, wie sich eine solche Platte beständig nach einer entsprechenden Einwirkung auf dieselbe bildet. Photogr. 3 stellt eine solche mutwillig hervorgerufene Platte vor, welche 10 Minuten nach einer Probe-Entnahme mit einer Pipette aufgenommen ist. Nachdem die Platte eine solche Konstruktion angenommen hat, bleibt sie ungefähr eine Stunde unverändert und nachher werden die Ansammlungen mehr und mehr figurenähnlich und die Zwischenräume immer leerer, d. h. die Ansammlungen verteilen sich auf der Platte. Zuweilen dauerte diese Erscheinung in aller ihrer Schärfe bis 3 Tage an, was mich veranlaßte, entsprechend dem Charakter der inneren Ursache der Erscheinung, sie als „Platte mit andauernd erhöhter Chemiotaxis-Spannung" zu bezeichnen. Als eine sehr interessante Thatsache erscheint es, daß auch in diesen Fällen die die Ansammlungen bildenden Organismen ihre Bewegungsfähigkeit nicht verlieren.

Fontaine. Fig. 3 (Tafel IV) stellt eine neue Platte dar, welche soeben Fontainen gebildet hat. Sie ist von der Seite und ein wenig

1) Ueber diese Frage habe ich viel Material gesammelt, welches unter dem Titel: „Wirkung äußerer Faktoren auf die Platte" erscheinen wird.

2) Die Platte stellt ein Beispiel der ungleichen Verteilung der Organismen an verschiedenen Stellen derselben, nicht nur der Qualität, sondern auch der Quantität nach, vor.

von oben aufgenommen, um ihren Plan zu zeigen. Ungeachtet dessen, daß bei einer jeden solchen Aufnahme die vordere Seite eines jeden konvexen Teiles der Platte uns undichter erscheint, als es in der That ist, weil man auf diesen Teil unter einem größeren Winkel sieht [1]), sind diese Teile der Konvexitäten (nach oben) der Platte so dicht, daß sie uns nicht als verundichtet erscheinen; die Basis-Fontainen sind regelrechte Kreise dichterer Organismen-Ansammlungen, nur einige von ihnen, z. B. im vorderen Plane links, haben die Gestalt eines Bogens, d. h. die vordere Seite scheint uns gerade ebenso dicht, wie die Platte selbst, wegen ihrer großen Konvexität. Es ist klar, weswegen die hintere Seite der Basis der Fontaine (der Konvexitäten) dichter erscheint.

Hieraus geht hervor, daß diese Basis-Ansammlungen, aber keine Täuschung der Perspektive sind; man kann dieses auch auf eine andere Art beweisen, indem man auf die Platte mehr und mehr von oben aus sieht, was die einfachste und unmittelbarste Methode ist. Die oben dargestellten Elementar-Erwägungen habe ich nur deswegen angeführt, um zu zeigen, daß ich sie in Betracht gezogen habe und weiterhin werde ich sie nicht mehr anführen.

(Schluß folgt.)

Zur Mikrobiologie des Nitrifikationsprozesses.

Von

Prof. Dr. S. Winogradsky

in

St. Petersburg.

(Schluß.)

Unerwartet haben wir dann noch ein drittes verunreinigendes Bakterium in die Hände bekommen, ohne daß wir auf dasselbe fahndeten oder seine Anwesenheit vermuteten. Bevor noch das Resultat klar wurde, daß uns gelungen ist, durch einmalige Plattenkultur das nitratbildende Bakterium rein zu erhalten, setzten wir unsere Isolierungsarbeiten fort, indem wir von den ersten Platten eine zweite Reihe und davon — ohne das Verschwinden der Nitritreaktion abzuwarten — eine dritte Reihe von Nitritagarplatten impften. Die Unsicherheit der mikroskopischen Kontrolle wollten wir nämlich durch mehr als gewöhnlich wiederholte Isolierungsmanipulationen ersetzen. Bei dem Anlegen dieser dritten Reihe sind wir so verfahren, daß wir auf einer nur etwa ein Dutzend Kolonieen tragenden Platte eine relativ größere Kolonie wählten, daraus eine Verdünnung in 5 ccm Nitritnährlösung machten und aus diesem Kölbchen 6 Nitritagarplatten, 2 Röhrchen mit Nitritagar, 2 mit

1) Ungeachtet der Schärfe der Umrisse und Dichte der Platte kann man sie unter einem grofsen Winkel (zum Horizont) schwer, aber von oben gar nicht sehen.

Fleischpeptonagar und 2 mit Nährbouillon gleichzeitig impften. Schon am vierten Tage (bei 30°) erschien auf Nitritagar in Röhrchen eine mäßige Zahl (gezählt 70 Stück) von wasserklaren, tröpfchenähnlichen Kolonieen, deren Größe ($^1/_3$ bis $^1/_2$ mm) und rasches Erscheinen uns etwas auffiel; die Bouillon blieb noch klar. Am 6. Tage zeigten auch die Bouillonröhrchen Wachstum, zuerst mit kaum merklicher Trübung, später aber entwickelte sich das schon erwähnte Bild schwacher anhaltender Trübung mit Bildung von sehr geringem rein weißem Bodensatze. Da ich inzwischen schon nitrifizierende Kulturen besaß, welche Bouillon vollständig unverändert ließen, und da andererseits ich hier unzweifelhafte, zumal von den Kulturen α und β verschiedene Reinkulturen vor mir hatte, so schien es gerechtfertigt, in denselben eine dritte verunreinigende Art zu vermuten. Es blieb abzuwarten, ob Nitritoxydation in mit dieser Art geimpfter Nitritlösung und Nitritagar eintreten werde: es waren im Augenblick 12 Plattenkulturen (6 zweiter und 6 dritter Reihe) im Gange und im Ganzen 8 davon geimpfte Kolben mit Nitritnährlösung. In keinem einzigen Falle hat man nach Verlauf von 6 Wochen eine Abnahme der Nitritreaktion konstatiert. Fortgesetzte Kulturversuche auf den üblichen Medien haben dann über jeden Zweifel erhoben, daß diese dritte verunreinigende Art, welche wir als Bacterium γ bezeichnen, obgleich im Originalmaterial relativ reichlich vertreten, doch mit dem spezifischen Organismus nichts gemein hat.

Wir waren also der besten Ueberzeugung, daß wir an der Isolierung des letzteren arbeiteten und nur die relative Mannigfaltigkeit unserer Kulturversuche hat uns vor einer Täuschung bewahrt; sonst hätten wir auch leicht ein nitrifikationsunfähig gewordenes Nitratferment entdecken können. Wie der Fehlgriff, der uns schließlich gut gedient hat, geschah, ist klar. Da die weitere Spezifizierung der kleinsten Kolonieformen auf den ersten Agarplatten zu große Anforderungen an unser Unterscheidungsvermögen stellte, so haben wir zuerst alle diese Kolonieformen, von denen wir zwei nur undeutlich auseinanderhalten konnten, als einer Art angehörend betrachtet und ohne Unterschied von beiden abgeimpft. Da aber die Abimpfung von sehr kleinen Kolonieen Schwierigkeiten machte, so sind wir unwillkürlich in der Mehrzahl der Fälle auf die um ein Drittel bis doppelt so großen Kolonieen von Bacterium γ getroffen und haben dieselben weiter gezüchtet, bis wir durch Trübung von Bouillon auf den wahren Sachverhalt aufmerksam wurden.

Die Bakterien α, β, γ haben wir in verschiedener Weise auf Nitritagarplatten und -Röhrchen, Fleischpeptonagarplatten und Röhrchen, Fleischpeptongelatine und -Bouillon von verschiedenem Alkalinitätsgrad kultiviert, und lassen wir eine kurze Charakteristik dieser Arten folgen.

Bacterium α. Kokken von 0,7 μ Durchmesser; verlängerte Formen selten. Färbung mit den üblichen Farben intensiv. Wachstum den üblichen Medien relativ energisch. In Nährbouillon: Trübung nach 24 Stunden, Neigung zur Bildung schleimiger weißer, leicht zu Boden sinkender Ansammlungen an der Oberfläche. Nach 1—2 Wochen Klärung unter Bildung eines relativ voluminösen

schmutzig-weißen Bodensatzes. In Fleischpetonagar: nach 48 Stunden breiter Streifen, der am unteren Ende die ganze Fläche des Substrats bedeckt, im auffallenden Lichte grau-weiß, im durchfallenden gelblich trüb, an den Rändern homogen durchsichtig. In Fleischpeptongelatine langsames Wachstum: während 10 Tagen bis zwei Wochen der Strich nur 2 mm breit, rein weiß, flach und glänzend; erst dann Bildung einer rinnenförmigen Einsenkung unter dem oberen Teile des Striches, allmähliche Verlängerung dieser Rinne unter dem ganzen Striche, gleichzeitige auf diese Rinne begrenzte Verflüssigung der Gelatine, Herabgleiten der ganzen Masse der Bakterien in das untere Ende des Röhrchens, wo dann vollständige Verflüssigung des Bodens eintritt, oben aber zwei die Rinne begrenzende Wälle der Gelatine bis zur Austrocknung erhalten bleiben. In Nitritagar: sehr dürftiges Wachstum und nur während der ersten 2—3 Tage schwach milchig trübe Tröpfchen, 1—3 mm im Durchmesser.

Bacterium β. Kurzstäbchen, die oft wie Kokken aussehen. Längsdurchmesser 1,2—1,5 μ, Querdurchmeser 0,7—0,8 μ. Sehr intensive Färbbarkeit. Wachstum viel träger als das vorige. In Nährbouillon: Trübung nach 2—3 Tagen, nach etwa 12 Tagen vollständige Klärung unter Bildung eines nicht voluminösen, zuerst schmutzig- oder gelbroten, dann orangerothen Bodensatzes. In Fleischpeptongelatine: Wachstum in neutraler oder schwach alkalischer Gelatine sehr schwach, besser in deutlich alkalischer; nach zwei Wochen lebhaft orangeroter, flach, trocken und glänzend aussehender, nicht verflüssigender Streifen. In Fleischpeptonagar: Wachstum viel lebhafter, Strich zuerst aus einem dünnen schmutzig-rötlichen Schleim bestehend, später trockener und lebhafter orangefarben. In Nitritagar: oberflächliche Kolonieen oft sternförmig, gelblich; in Röhrchen unbedeutender gelblicher Strich.

Bacterium γ. Sehr kleine Kokken. Durchmesser etwa nur 0,5 μ, schwer meßbar, da die Konturen unbestimmt sind. Färbung mit wässerigen Anilinfarben ungleichmäßig, stark gefärbte Körner und Klümpchen wechseln mit blassen oder farblos gebliebenen Stellen. Wachstum sehr schwach. In Nährbouillon: sehr schwache Trübung nach 5 Tagen mit unbedeutender späterer Zunahme, Klärung langsam und unvollständig unter Bildung eines etwa hanfkorngroßen Häufchens von rein weißem Bodensatze. In Fleischpeptonagar: Strich im allgemeinen wenig breit, in auffallendem Lichte kaum weißlich, in durchfallendem glashell und durchsichtig, schwach grünlich und rosa irisierend. In Fleischpeptongelatine: gute Kulturen nur nach mehreren Ueberimpfungen in Fleischpeptonagar und -Gelatine zu erzielen. Strichkulturbilder an Bacterium α erinnernd; nur ist der Strich viel ärmer bewachsen, nicht rein weiß, glashell und schwach irisierend. Verflüssigung beginnt gleichzeitig an mehreren Stellen, wo gerade bedeutende Massen von Organismen gewachsen sind; es tritt auch weiter Rinnenbildung, Herabfließen der Bakterien nach dem Röhrchengrunde und Verflüssigung der Gelatine daselbst auf. In Nitritagar: Kolonieen denen des nitratbildenden Bakteriums ähnlich; im Innern des Substrates oft linsenförmig, homogen,

selten mehr als 0,1 mm messend, sehr leicht olivenbraun; an der Oberfläche wasserhell, homogen, rund, mit einigen schwach lichtbrechenden Klumpen, 0,5 bis 0,6 mm im Durchmesser.

Was das Nitritoxydationsvermögen dieser drei Arten betrifft, so habe ich in je sechs Plattenkulturen auf Nitritagar und je sieben Kolben mit Nitritnährlösung, welche ich zu verschiedener Zeit mit jeder Art reichlich impfte, nie Anzeichen einer Oxydation konstatiert, obgleich ich die Reaktion noch nach Verlauf von 2 Monaten kontrollierte.

Um dem Einwande entgegenzutreten, daß die Kulturen vielleicht nachträglich, während meiner Ueberimpfungen verunreinigt wurden, das Originalmaterial aber diesen fremde Arten nicht enthielt, habe ich zu dem sorgfältig aufbewahrten Stammkölbchen mit Originalmaterial zurückgegriffen und damit Fleischpepton-Agarplatten gegossen. Dieses Substrat habe ich gewählt, da es sich in unserem Falle viel günstiger erwies als Gelatine. Als die ersten erschienen auf den Platten große schmutzig-weiße Kolonieen, welche im Laufe von 3 Tagen einen Durchmesser von ca. 1 cm erreichten; etwas später, aber in größerer Zahl, erschienen kleinere, nur 2—3 mm messende Kolonieen, welche, zuerst kaum merklich, später deutlicher rosa, endlich nach 7 Tagen lebhaft orangefarben aussahen. Ganz zuletzt, nur nach 5—7 Tagen, erschienen zwischen den schon erwähnten sehr zahlreiche kleinste Pünktchen, die allmählich zu wasserhellen, schwach irisierenden, nun etwa 1 mm messenden Kolonieen heranwuchsen. Kurz, es waren die uns schon bekannten Arten fast auf den ersten Blick zu erkennen. Von jeder Kolonieenart wurde abgeimpft, und diese Kulturen mit den seinerzeit mit Hilfe von Nitritagar isolierten Kulturen der 3 Bakterien verglichen: Beim besten Willen konnte man keinen Unterschied merken.

Wenn aber diese fremden Arten in dem uns zugesandten Material sicher vorhanden waren, so kann vielleicht dieses selbst aus einer durch Zufall noch zu Hause verunreinigten Kultur stammen, während sonst unsere Forscher mit reinerem Material arbeiteten. Diese Frage hat für uns kein Interesse, da die Eigenschaften und die Zahl der verunreinigenden Bakterien uns vollkommen gleichgiltig sind; Hauptsache ist, daß das dem nitratbildenden Bakterium zugeschriebene kulturelle Verhalten in Wirklichkeit ihm nicht gehört, wie im Folgenden des weiteren bewiesen wird. Nur machen wir ausdrücklich auf die Thatsache aufmerksam — die wohl Jedem, der die uns beschäftigende Abhandlung durchgelesen hat, schon auffiel — daß *die von uns beobachteten Kulturbilder der verunreinigenden Arten in Bouillon und Gelatine mit den von Burri und Stutzer dem nitratbildenden Bakterium zugeschriebenen vollkommene Aehnlichkeit zeigen, so daß ich die ausführliche Beschreibung dieser Autoren stellenweise Wort für Wort gebrauchen könnte.* Einige unbedeutende Abweichungen lassen sich dadurch erklären, daß wir eine Mischkultur vor uns haben, in welcher unter gewissen Umständen bald die eine, bald die andere Art Oberhand gewinnt.

So ist uns mehrere Male aufgefallen, daß nach längerem Verweilen in mineralischer Lösung die Wachstumsenergie dieser Bakterien auf den üblichen Nährböden, besonders auf Gelatine, sehr herabgedrückt wird, was wahrscheinlich als Folge der Abschwächung, der Inanition zu deuten ist. Selbst Bacterium α, aus mineralischer Lösung auf Gelatine ausgestrichen, läßt manchmal dieselbe steril; mit β geschieht das noch häufiger, und was γ betrifft, so gelingt es manchmal gar nicht Gelatinekulturen durch Impfung direkt auf dieses Substrat zu erzielen, sondern man muß zuerst Bouillon und Fleischpepton-Agarkulturen machen und erst daraus Gelatine impfen; auch dann bleiben die ersten Gelatinekulturen dürftig, und zeigen nur die folgenden ergiebigeres Wachstum; ausgesprochene alkalische Reaktion des Mediums ist günstig. Nicht nur auf Gelatine, sondern auch auf Fleischpeptonagar aus mineralischer Lösung versetzt, will manchmal, das eine oder das andere Bakterium nicht wachsen. Nur Nährbouillon scheint nie zu versagen, und bleibt deshalb der beste Nährboden, um die Reinheit der Kulturen der nitrifizierenden Bakterien zu kontrollieren.

Wir gehen jetzt zur Beschreibung unserer Kulturversuche mit dem nitratbildenden Bakterium aus Northeim a. d. L., dessen Reinerhaltung Stutzer und Burri nicht gelingen wollte, über.

Die schon erwähnten drei nitrifizierten „bouillonsterilen" Kulturen in Nitritnährlösung haben uns als Stammkulturen einer schon sehr beträchtlichen Reihe von Kulturversuchen gedient, und geht in allen die Nitritoxydation gleich gut. Sowohl aus den Stammkulturen als aus den Tochterkulturen haben wir Aussaaten auf verschiedene Substrate gemacht, sowohl um das kulturelle Verhalten des nitratbildenden Bakteriums zu studieren, als um eventuell noch vorhandene verunreinigende Arten zum Vorschein kommen zu lassen.

Jedes Kölbchen mit Nitritlösung haben wir nach vollendeter Oxydation jedesmal mit Hilfe von Nährbouillon geprüft, indem wir in den ersten Versuchen je eine Platinöse, in den späteren aber mehrere Tropfen bis eine kleine ($^1/_4$ ccm enthaltende) Pipette voll aus dem Kölbchen entnahmen und in Röhrchen mit schwach alkalischer Bouillon fließen ließen. Auch haben wir ausgesprochen alkalische Bouillon versucht. Alles ohne den mindesten Erfolg: in allen Fällen ohne Ausnahme blieb die Bouillon absolut klar und unverändert (Beobachtungszeit bis 6 Wochen), es war nicht die leiseste Andeutung eines Wachstums zu entdecken.

Keinen besseren Erfolg hatten unsere Einimpfungen aus der fertig oxydierten Nitritnährlösung in Fleischpeptonagar und Gelatine: nach Ausstreichen von einem Tropfen Flüssigkeit auf die schräg erstarrte Oberfläche dieser Substrate ist es uns nie gelungen, selbst nach wochenlangem Kontrollieren der Röhrchen mit Hilfe der Lupe auch nur eine einzige Kolonie aufzufinden.

Um eventuell gewachsene mikroskopisch kleine Kolonieen sicherer auffinden zu können, haben wir mit diesen Nährböden auch Oberflächenplatten angelegt, indem wir auf die Mitte der erstarrten Platten (in Petri'schen Schalen) je einen Tropfen der fertig oxydierten Lösung deponierten und damit eine bestimmte Figur — ein

Kreuz — auf der Oberfläche zeichneten. Nach Verlauf von 5 Tagen kontrollierten wir täglich die Platten längst der Striche unter dem Mikroskope bei 200-facher Vergrößerung, bis die Platten brauchbar blieben. Drei Fleischpeptongelatine- und drei Fleischpepton-Agarplatten habe ich auf diese Weise während 11 Tagen in Beobachtung gehabt, aber keine einzige mikroskopische Bakterienkolonie auffinden können, bis zuletzt Rasen von Penicillium die Platten unbrauchbar machten.

Dagegen hat sich Nitritagar in Röhrchen wie in Platten immer sehr gut bewährt und kann jetzt die so beliebte Kultur in Röhrchen auf festem Substrate zwecks Heranzüchtens von reinem Impfmaterial als sicherer und praktischer diejenige in Nitritnährlösung ersetzen.

Was das Wachstum der Kolonieen des Bakteriums auf Nitritagarplatten betrifft, so ist es, wie schon erwähnt, ein ungemein langsames. Während der ersten Woche sieht man von Entwickelung so gut wie gar nichts, und läßt man am besten die Platten 10 Tage bis 2 Wochen bei 25—30° ruhig stehen, um sie dann erst einer mikroskopischen Untersuchung bei 150—200facher Vergrößerung zu unterwerfen. Vor zehn Tagen kann nur ein geübtes Auge in den kleinsten stark lichtbrechenden Körnchen die jungen Kolonieen des betreffenden Organismus erkennen. Nach zwei Wochen haben die inneren Kolonieen der weder zu dicht noch zu dünn gesäeten Platten das Aussehen von runden, ovalen, eckigen, herz- oder linsenförmigen Körperchen, deren Durchmesser 30—50 μ, selten mehr, mißt und die sehr dicht, glänzend, scharf konturiert und unbestimmt bräunlich schimmernd erscheinen. Bis an die Oberfläche angelangt, verändert die Kolonie ihr Aussehen, indem die dichte Masse von der Peripherie nach dem Centrum hin sich in einen farblosen, schwächer lichtbrechenden, sehr zart punktierten Schleim verwandelt; den Rest der dichten Kolonie sieht man meistens excentrisch als dichten Klumpen in der nunmehr runden oder oft abgerundet-bohnenförmigen Masse liegen. Auf den Oberflächenplatten haben die Kolonieen von Anfang an das Aussehen von runden, fast homogenen, nur sehr zart gekörnelten Tröpfchen, ohne Klumpen; sie erreichen nach zwei Wochen einen Durchmesser von 100—180 μ. Nach weiteren zwei Wochen merkt man keine Veränderungen mehr, und werden die Kolonieen nur wenig größer: die inneren messen dann 50 bis 65 μ, die oberflächlichen bis 200 μ. Das sind Grenzwerte bei der angewendeten Zusammensetzung des Substrates und bei mittlerer Aussaat; bei dünner kann man die Bildung von etwas, aber nur wenig größeren Kolonieen hervorrufen, dagegen erreichen dieselben bei dichter Aussaat kaum 10 μ. Wenn die Nitritreaktion ganz verschwunden ist, was gewöhnlich nach 3—4 Wochen stattfand, zeigen die Kolonieen fortan keine Wachstumserscheinungen mehr [1]).

1) Es ist von mir und von anderen Beobachtern schon darauf hingewiesen worden, daß die Menge der Zellen in einer Flüssigkeit, wo lebhafte Nitritoxydation vor sich geht resp. vollendet ist, eine erstaunlich geringe ist. Dieselbe Thatsache fällt ganz besonders auf den Nitritagarplatten auf: mikroskopisch kleine, bei den dünn ausgesäten Platten manchmal ganz wenige, Kolonieen genügen, um eine große (9—10 cm im Durchmesser,

Was die Röhrchenkulturen auf demselben Medium betrifft, so gelingt es leicht, relativ ansehnliche Strichkulturen zu bekommen. Man bestreiche die Oberfläche des Nährbodens mit einer Platinöse fertig oxydierter Lösung und lasse ihn zwei Wochen bei 30° stehen. Während der ersten 10 Tage sieht man in den Röhrchen nur kaum merkliche Wachstumserscheinungen; erst nachher zeigt sich die bestrichene Fläche deutlich gemattet, worauf man bald mit dem bloßen Auge unzählige kleinste Körnchen unterscheiden kann, die unter der Lupe sich als glänzende Tröpfchen erweisen. Die kleinen Kolonieen konfluieren aber selbst nach Wochen nicht zu einem zusammenhängenden Strich. Wenn man nun aus diesen Röhrchen frische Röhrchen in Strichen impft, indem man mit einer Platinöse oder flachen Nadel über die bewachsene Fläche der alten Kulturen sammelt, so bekommt man schon nach 8 Tagen regelrechte relativ reiche Strichkulturen. Der Strich ist schmutzig weißlich, sieht oben fettig trocken aus, am unteren Ende sammelt sich ein relativ ansehnlicher dünnflüssiger Tropfen.

Impft man mit diesem Materiale Kölbchen mit Nitritnährlösung gewöhnlicher Zusammensetzung, so ist man über die Rapidität der Oxydation erstaunt: gewöhnlich dauert es nach Einsaat von einem Tropfen einer flüssigen Kultur in 25-proz. Nitritlösung 10—14 Tage, bis die Reaktion ganz verschwunden ist; hier verschwindet schon nach 3—4 Tagen jede Spur derselben. Der Unterschied ist so markant, daß man sich unwillkürlich fragt, ob man diese Thatsache nicht als „Verstärkung" des Nitratfermentes deuten müßte. Indessen trifft diese Erklärung wahrscheinlich nicht zu, und am ungezwungensten wäre die energischere Oxydation als Folge einer viel reicheren Einsaat zu betrachten. Man denke nur, daß der Schleim aus dem Striche der Nitritagarröhrchen ganz aus Organismen besteht, dagegen enthält das flüssige Medium nur wenige Zellchen, wie man sich leicht durch mikroskopische Untersuchung überzeugen kann. Dieser Umstand ist in unserem Falle ganz besonders von Bedeutung, da der spezifische Organismus sehr langsam wächst, und nimmt folglich seine Vermehrung bis zu einer merklich wirksamen Menge bei spärlicher Aussaat viel Zeit in Anspruch, welche bei reicher Aussaat ganz wegfällt.

Mit diesem konzentrierten Materiale von außergewöhnlicher Wirksamkeit war es interessant, die Kulturversuche auf „organischen Nährböden" ein letztes Mal zu wiederholen. So haben wir noch einmal die ganze Reihe von Impfungen auf Nährbouillon, Fl.-P.-Gelatine und Agar in Gang gesetzt. Die Impfungen waren für diesmal so übertrieben stark, daß die eben geimpfte Bouillon kaum merklich opalescierend aussah und man auf den festen Substraten die Impfstriche ziemlich deutlich mit Schleim gezeichnet sehen konnte. Trotzdem ist es uns nach wochenlangem Kontrollieren kein einziges Mal gelungen, Wachstumserscheinungen irgend welcher Art zu konstatieren.

In allen diesen Versuchen, einerseits, zeigten sich die Kolonieen auf Nitritagarplatten wie die Strichkulturen in Röhrchen als absolut

---

15 ccm Nitritagar mit 2 p. m. $NaNo_2$) Platte vollständig zu oxydieren, so daß in den von den Kolonieen entlegensten Teilen des Nährbodens keine Spur von Nitrit bleibt.

uniform und ließen nichts irgendwie Abweichendes erkennen; andererseits blieben unsere mehrfach modifizierten Impfversuche mit unserem reingezüchteten Materiale auf die üblichen proteïnstoffreichen Medien ganz steril und ließen keine fremde Art mehr als die drei bereits eliminierten zum Vorschein kommen. Der Beweis für die vollkommene Reinheit unserer Kulturen des nitratbildenden Mikroben ist demnach als vollkommen zwingend anzuerkennen.

Was das morphologische Verhalten unseres Mikroben betrifft, so ist es, wahrscheinlich an der Hand von Kieselsäureplattenkulturen, von Burri und Stutzer zum Teil richtig beschrieben. Dagegen würde eine ganz genaue Beschreibung der in Gelatine gewachsenen Formen etwas anders lauten, als dies bei den Bonner Forschern unter „Beschreibung des von uns isolierten Nitratbildners“ geschieht. In der That kann ich auf ihrem Photogramme No. 1 (siehe No. 6/7 dieses Centralblattes), welches dieses Bakterium aus jugendlicher Gelatinestrichkultur darstellen soll, das von mir so oft beobachtete Bild einer Reinkultur nicht wiedererkennen. Man vergesse aber nicht, daß die morphologischen Unterschiede dieser vier zusammengemengten Formen die denkbar geringsten sind und daß man sie nur dann merken kann, wenn man vollkommen gleich behandelte Präparate von vier reichen Reinkulturen unmittelbar mit einander vergleicht; wiederholt man einigemale eine derartige Untersuchung, so fallen sogar die Unterschiede leicht in die Augen. Sonst giebt es wirkliche Reinkulturen in Menge, die viel bedeutendere Variationen zeigen als dieses Gemisch von vier Arten, so daß jeder Bakteriologe eine mittlere Form als für das ganze Gemenge — als Reinkultur betrachtet — charakteristisch mit gutem Gewissen beschreiben kann.

Am schärfsten ist der Nitratbildner noch durch seine schwere, an das Verhalten von Sporen erinnernde Färbbarkeit von den ihn begleitenden Arten verschieden. Diese färben sich, wie erwähnt, leicht und intensiv mit wässerigen Anilinfarben, besonders mit Gentiana, und geben (vielleicht mit Ausnahme von γ) klare, bestimmte Bilder; der Nitratbildner bleibt dagegen bei gleicher Behandlung ganz farblos, so daß es gelingt, in einer unreinen Kultur zwischen gefärbten Kokken und Stäbchen mit einer starken Oelimmersion ganz farblose Zellchen massenhaft zu finden, welche gerade dem Nitratbildner angehören.

Für die mikroskopische Untersuchung eignen sich die Nitritagarröhrchen am besten, woraus man reiche Präparate bekommt. Die Angabe von Burri und Stutzer, daß unser Bakterium eine Schleimhülle besitzt und infolgedessen nach Färbung mit Karbolfuchsin sehr viel dünner und zarter aussieht als nach Einwirkung anderer Farbstoffe, ist vollkommen richtig. Meinerseits habe ich nach Einwirkung von Gentiana unter Erwärmung, nachherigem Waschen mit 2-proz. und Einlegen in 10-proz. Kochsalzlösung eine förmliche Kapsel beobachten können: Die Zellchen erschienen mit violetten Höfen umgeben, die nach außen sich verlieren, nach innen dagegen die ganz ungefärbten, etwas glänzenden ellipsoidischen Körperchen sehr scharf begrenzten; diese erschienen nicht zu klein, etwa 1,2—1,5 μ lang,

0,6—0,7 μ dick. Offenbar schlägt sich bei dieser Präparationsart der Farbstoff auf die äußersten verquollenen Teile der Kapsel einfach nieder, diese aber mit den eingeschlossenen Zellchen bleibt ungefärbt; denn in anderen Präparaten ist es mir gelungen, durch halbstündige Einwirkung von Gentiana unter Erwärmen die Körperchen durchzufärben und innerhalb der farblos gebliebenen Kapsel von der oben angeführten Größe winzige, wenig intensiv gefärbte Stäbchen deutlich zu unterscheiden. Karbolfuchsin färbt nur die Stäbchen, ohne die Hüllen irgendwie hervortreten zu lassen und deshalb fallen die ersteren durch ihre außerordentliche Kleinheit auf. Die Färbung ist dabei keine gleichmäßige; es schien mir nur der mittlere Teil der Zellchen gefärbt, die beiden zugespitzten Enden dagegen fast farblos. Bei Anwendung von Loeffler'schem alkalischen Methylenblau färben sich intensiv nur die im Innern der Zellen, meistens in Einzahl vorhandenen Körnchen, die übrige Substanz blasser und zum Teil gar nicht, sodaß man oft mit Mühe die Konturen der Stäbchen um die Körnchen sucht; wenn man nicht stark genug färbt, so sieht man nur Haufen von diesen unmeßbar kleinen Körnchen, zwischen welchen man die Stäbchen kaum erkennt.

So viel ich nach diesen Beobachtungen feststellen konnte, sind die Zellen stäbchenförmig mit einem oder beiden verjüngten Enden, unter 1 μ lang und nur etwa 0,3—0,4 μ dick. Eine einigermaßen genaue Messung ist aber wegen der Unbestimmtheit der Konturen sehr schwer. Ob die auch in flüssigen Medien gewachsenen Stäbchen Kapseln besitzen, weiß ich nicht anzugeben. Auch ist es mir nicht gelungen, in jugendlichen wie in alten Nitritagarkulturen Bewegungszustände anzutreffen. Die darauf bezüglichen Angaben von Burri und Stutzer bedürfen selbstverständlich der Nachprüfung an der Hand von Reinkulturen.

Zum Schlusse noch einige Worte über die Vorschriften, um das nitratbildende Bakterium leicht und sicher aus jedem Boden zu isolieren. Diese Vorschriften ergeben sich aus meinen Schilderungen von selbst; das Aussehen der Kolonieen mag von Fall zu Fall verschieden sein — was ich thatsächlich beobachtet habe — immer wähle man aber die allerkleinsten Kolonieen, wenn dieselben auf den Nitritagarplatten in großer Zahl zugegen sind. Am besten verfährt man so, daß man 5—6 Platten mit sehr verschiedenen Impfmengen gleichzeitig anlegt und 3—4 Wochen bei 20—30° C in einer feuchten Kammer stehen läßt. Nach dieser Frist wird das Verschwinden der Nitritreaktion ein untrügliches Zeichen geben, daß das Nitritferment wirklich auf den Platten gewachsen ist. Dann impft man aus verschiedenen Kolonieen eine größere Zahl von Kölbchen mit Nitritnährlösung und man wird selten fehlen, in einigen davon das Nitratferment rein zu erhalten.

Um diese Vorschrift an einer anderen Erdprobe zu prüfen, habe ich ganz beiläufig dasselbe Ferment aus einer Petersburger Erdprobe isoliert. In sehr kurzer Zeit läßt sich dieses Unternehmen bei der Natur der Sache nicht zu Ende führen. Aber die ganze Arbeit hat ganz wenig Mühe und nur wenige Manipulationen gekostet. Am 30. Januar: Einsaat von Erde in Nitritnährlösung. Vom 30. Januar

bis 30. März: drei Ueberimpfungen in Nitritnährlösung, jedesmal nach vollendeter Oxydation. Am 30. März: Anlegen von 4 Nitritagarplatten. Am 26. April: Nitritreaktion von allen Platten gleich Null. Am selben Tage: Untersuchung der Platten und Impfung von sechs Kölbchen mit je 25 ccm Nitritlösung, mit je einer Kolonie. Am 16. Mai: Oxydation in zwei Kölbchen vollendet (am 22. kommt ein drittes hinzu, in den übrigen drei bleibt die Reaktion bis zum 28. erhalten und wird weiter nicht kontrolliert). Am 16. Mai: Impfung von 6 Bouillonröhrchen aus den 2 Kölbchen. Alle Röhrchen bleiben dauernd klar und unverändert.

Das morphologische Verhalten und das Aussehen der Kolonieen des Petersburger Bakteriums bietet einige Eigentümlichkeiten, über welche wir bei einer anderen Gelegenheit zu sprechen hoffen.

Um die Isolierungsmanipulationen etwas zu erleichtern, könnte man vielleicht noch stärkeren Nitritgehalt der Gallerte versuchen, womit man vielleicht die Bildung von größeren Kolonieen hervorrufen könnte. Auch beabsichtige ich, die Kultur von dem ammoniakoxydierenden, nitritbildenden Organismus auf Agar passender Zusammenhang zu versuchen.

Die hauptsächlichsten Resultate dieser Untersuchung können wir ganz kurz fassen:

1) Die Oxydation der Nitrite zu Nitrate müssen wir vorläufig weiter als eine streng spezifische Funktion betrachten, welche mit der Fähigkeit, organische, zumal stickstoffreiche Substanz zu zerlegen, unvereinbar ist.

2) Diese Funktion ist keine labile, sondern von der Lebensthätigkeit des Mikroben unzertrennlich, und kann seine Entwickelung nur Hand in Hand mit der Nitritoxydation gehen.

3) Die widersprechenden Angaben von Burri und Stutzer beruhen auf Untersuchungsfehlern und „ein auf Nährgelatine gedeihender nitratbildender Bacillus“ existiert, wenigstens vorläufig, noch nicht.

St. Petersburg, den 1. Juni 1896.

Referate.

Godlewski, E., Ueber die Nitrifikation des Ammoniaks und die Kohlenstoffquellen bei der Ernährung der nitrifizierenden Fermente. Mit 2 Holzschnitten. 53 p. Krakau 1896. [Polnisch.]

Die Entdeckung Winogradsky's und Frankland's, daß die nitrifizierenden Bakterien ihre organische Substanz aus rein mineralischen Stoffen, ohne Mitwirkung des Chlorophylls und des Lichtes, zu bilden vermögen, ist von so einschneidender Bedeutung für die Pflanzenphysiologie, daß eine nochmalige Verifizierung dieser Thatsache unter allen Kautelen dem Verf. erwünscht schien, umsomehr

als von Elfving ein bisher nicht widerlegter Einwand erhoben worden ist, daß nämlich die Ernährung auf Kosten geringer Mengen flüchtiger, in der Luft enthaltener organischer Substanzen (z. B. Essigsäure) erfolgen könnte, wie das Elfving thatsächlich für Briarea nachgewiesen hat. Daneben verfolgte Verf. noch zwei weitere Zwecke, nämlich: 1) zu entscheiden, ob die nitrifizierenden Bakterien ihren Kohlenstoff (wie Winogradsky meint) aus kohlensauren Salzen der alkalischen Erden, oder aus freier Kohlensäure beziehen; 2) näheren Aufschluß über den Anteil des Ammoniakstickstoffes zu gewinnen, welcher bei der Nitrifikation als freier Stickstoff entweicht.

Verf. arbeitete durchweg mit der Winogradsky'schen Nährlösung, bestehend aus zweimal destilliertem Wasser, Ammoniumsulfat und Kaliumphosphat mit einem Zusatz von basischem Magnesiumkarbonat, und mit Bakterienmaterial, welches aus Erde nach Winogradsky's Vorgang durch successives Ueberimpfen in diese mineralische Nährlösung erhalten war. Da die Analysen durchweg die Abwesenheit von Nitraten ergaben, so hatte es Verf. in seinen Versuchen offenbar ausschließlich mit dem nitritbildenden Bakterium (Winogradsky's Nitrosomonas) zu thun.

Eine erste Versuchsreihe wurde in offenen Erlenmeyer'schen Kolben angestellt. Von 4 in gleicher Weise hergerichteten und infizierten Kolben blieb der eine (1) unbedeckt, nur mit Watte verschlossen, drei andere wurden unter mit verschiedenen Flüssigkeiten abgesperrten Glasglocken gehalten, und zwar waren abgesperrt: 2 und 3 mit Kaliumhypermanganat resp. konzentrierter Schwefelsäure (zur Abhaltung flüchtiger organischer Stoffe), 4 mit Kalilauge (zur Abhaltung freier Kohlensäure). Die von Zeit zu Zeit vorgenommenen Proben ergaben in 1, 2 und 3 eine lebhafte Nitrifikation, in 4 dagegen fand monatelang gar keine Nitrifikation statt, obgleich die Infektion dieser Kultur sicherheitshalber erneuert wurde. Dieser Versuch wurde nochmals mit völlig gleichem Resultate wiederholt. Daraus ergiebt sich, daß das Magnesiumkarbonat nicht als Kohlenstoffquelle für das Bakterium dienen kann; die Ernährung auf Kosten flüchtiger organischer Stoffe erscheint sehr unwahrscheinlich, wenn auch noch nicht absolut ausgeschlossen, höchst wahrscheinlich hingegen erscheint die Ernährung auf Kosten freier Kohlensäure. (Leider hat es Verf. versäumt sich zu überzeugen, ob die Kultur 4 zu nitrifizieren begann, wenn freie Kohlensäure zu ihr Zutritt erhielt, was eine jedenfalls erwünschte Kontrolle gebildet hätte. Ref.)

Eine weitere quantitativ-analytische Versuchsreihe wurde in verschlossenen Kolben ausgeführt. Die je 100 ccm Nährlösung enthaltenden Kolben waren mit eingetriebenem Flaschenkork verschlossen, auf den eine Quecksilberschicht gegossen war; durch den Kork gingen zwei Glasröhren; die eine, rechtwinkelig gebogen und zugeschmolzen, diente zur Entnahme einer Gasprobe für die Analyse am Schlusse des Versuches, die andere, zweimal rechtwinkelig gebogen und im längeren Schenkel kalibriert, tauchte in Quecksilber und gestattete an dem Aufsteigen des Quecksilbers die Verminderung des Gasvolumens im Kolben (und folglich den ungefähren Verlauf der Nitrifikation) während des Versuches zu verfolgen. Das Gasvolumen in den Kolben nebst

Glasröhren wurde zu Beginn des Versuches genau bestimmt. Kolben 1 enthielt gewöhnliche Luft, in Kolben 3 war überdies ein kleines Gefäß mit Essigsäure aufgehängt, Kolben 2 erhielt einen Zusatz von Kohlensäure, so daß dieselbe 3,86 Proz. der Luft betrug; der Kohlensäuregehalt in Kolben 1 und 3 war so gering, daß er vernachlässigt werden konnte. Die Kolben blieben mehrere Monate stehen, bis die Nitrifikation aufgehört hatte. Darauf wurde eine Gasprobe und die filtrierte Nährlösung genau analysiert; im Filtrat wurde bestimmt: a) das Ammoniak, b) die salpetrige Säure durch Titrierung mit Chamäleon, c) salpetrige Säure und Salpetersäure nach Schlössing (der Vergleich von b und c zeigte, daß nur Nitrite gebildet wurden); außerdem wurde das Ammoniak in dem mit Natronlauge gekochten Bodensatz bestimmt. Die gewonnenen Daten gestatteten sowohl eine Stickstoff- als eine Sauerstoffbilanz aufzustellen.

Wider Erwarten ergab sich in allen drei Kolben eine energische Nitrifikation. Die Sauerstoffbilanz zeigte jedoch, daß wesentlich mehr Sauerstoff verbraucht worden war, als die Nitrifikation erforderte, was nur dadurch zu erklären ist, daß eine allmähliche Oxydation des Korkes stattgefunden hatte. Da hierbei Kohlensäure entsteht, so hatten also alle drei Kulturen freie Kohlensäure zur Verfügung, und hierdurch erklärt es sich, daß auch in Kolben 1 und 3 Nitrifikation stattfand; in 3 konnte überdies Kohlensäure auch durch die Essigsäure aus dem Magnesiumkarbonat in Freiheit gesetzt sein. Für die Frage nach der Kohlenstoffquelle ist somit diese Versuchsreihe nicht entscheidend, weshalb Ref. auch darauf verzichtet, auf die Resultate der Analysen einzugehen. Erwähnenswert ist aber der verschiedene Verlauf der Nitrifikation in den Kolben 1 und 2, wie er aus dem Quecksilberstande erschlossen werden kann; nach ca. 2 Monaten war die Nitrifikation in Kolben 2 (mit Kohlensäurezusatz) schon erheblich vorgeschritten, in Kolben 1 (ohne Kohlensäurezusatz) nur wenig (Abnahme des Gasvolumens in 2 37,1 ccm, in 1 nur 10,8 ccm); auch weiterhin blieb der Prozeß in Kolben 1 zurück und erreichte seinen Abschluß später als in Kolben 2; diese Verspätung der Nitrifikation in Kolben 1 steht mit der Annahme in Einklang, daß die Anwesenheit freier CO_2 für die Lebensthätigkeit der Bakterien unentbehrlich ist. Im Kolben 3 (mit Essigsäure) hörte die Nitrifikation früher auf, als in den beiden anderen, und ein bedeutender Teil des Stickstoffes wurde bei der Analyse nicht aufgefunden, derselbe dürfte wahrscheinlich in eine Essigsäureverbindung übergegangen sein.

Die Gasanalyse, welche nur für Kolben 1 und 3 ausgeführt werden konnte, ergab bei beiden eine Zunahme des freien Stickstoffes um mehrere Kubikcentimeter; in Kolben 1 entsprach dieses Plus ziemlich genau dem Minus an gebundenem Stickstoff, das in der Flüssigkeit nebst Bodensatz konstatiert wurde. Ein Teil des Ammoniakstickstoffes geht also bei der Nitrifikation in freien Stickstoff über; dieser Teil betrug in der vorliegenden Versuchsreihe ca. 12 Proz.

Um die durch die Anwesenheit des Korkes bedingte Fehlerquelle zu vermeiden, wurde eine weitere Versuchsreihe in besonders konstruierten Apparaten ausgeführt, in denen nur Glas und Quecksilber zur Verwendung kam; auf die Einzelheiten der Konstruktion der Ver-

suchskolben, welche im übrigen wesentlich die gleiche war wie in der vorigen Versuchsreihe, kann hier nicht eingegangen werden. Die ursprüngliche Menge des Ammoniakstickstoffes in jedem Kolben betrug 52,9 mg. Kolben 1 und 2 enthielten Luft mit Zusatz von 3,6 resp. 5,6 Proz. CO_2, Kolben 3 Luft ohne Kohlensäurezusatz. Das Resultat entsprach diesmal den Erwartungen. In den beiden ersten Kolben stellte sich die Nitrifikation bald ein, und am Schluß der 4 resp. $5^1/_2$ Monate dauernden Versuche hatte sich das Gasvolumen um 102 resp. 104,4 ccm vermindert; im Kolben 3 betrug die Verminderung des Gasvolumens nach $6^1/_2$ Monaten nur 1,4 ccm. Die Analyse des Kolbens 3 ergab völlige Abwesenheit von Nitriten; die Gasanalyse konnte nicht ausgeführt werden. Die Analyse der beiden ersten Kolben ergab folgendes:

	Analyse des Gases			Analyse der Flüssigkeit und des Bodensatzes	
	CO_2	O	N	NH_3-Stickstoff	HNO_2-Stickstoff
Kolben 1	— 9,0 ccm	— 117,03 ccm	+ 0,83 ccm	— 51,1 mg	+ 48,4 mg
„ 2	—23,49 „	— 119,23 „	+ 0,83 „	— 52,2 „	+ 49,0 „

	Stickstoffbilanz		
	Gebundener N	Freier N	Differenz
Kolben 1	— 2,7 mg	(0,83 ccm =) + 1,1 mg	— 1,6 mg
„ 2	— 3,2 „	(0,83 „ =) + 1,1 „	— 2,1 „

Der kleine Fehlbetrag in der Stickstoffbilanz rührt teils von Beobachtungsfehlern, teils auch davon her, daß ein Teil des zur Ernährung der Bakterien verbrauchten Stickstoffs für die Analyse verloren ging. — Die bei der Gasanalyse gefundene Abnahme des Sauerstoffs stimmte mit derjenigen Menge, welche die Bildung des gefundenen Quantums von Nitrit und freiem Stickstoff aus Ammoniak beansprucht, bis auf eine innerhalb der Fehlengrenzen liegende Differenz überein.

Diese Versuchsreihe zeigt evident, daß die freie Kohlensäure, nicht aber die Kohlensäure des Magnesiumkarbonats von Nitrosomonas assimiliert wird.

Was die Produktion von freiem Stickstoff betrifft, so ist sie in dieser Versuchsreihe viel geringer als in der vorhergehenden; der gefundene freie Stickstoff beträgt nur ca. 2 Proz. des Ammoniakstickstoffs, und selbst wenn man den ganzen Fehlbetrag an gebundenem Stickstoff als in freien Stickstoff umgewandelt annehmen wollte, so macht dies nicht über 6 Proz. aus. Die Ursache der Differenz sieht Verf. darin, daß in der gegenwärtigen Versuchsreihe die Kolben weiter waren, und daher die Dicke der Flüssigkeitsschicht kleiner war als in der vorigen (6,5 mm gegen 12,5 mm). Verf. glaubt, daß der entstehende freie Stickstoff nicht ein direktes Stoffwechselprodukt der Bakterien ist, sondern das Produkt der Wechselwirkung der gebildeten salpetrigen Säure und des noch nicht oxydierten Ammoniaks

($NH_3 + HNO_2 = 2 H_2O + N_2$); und in hier nicht zu wiederholender Weise macht er es plausibel, daß diese Wechselwirkung um so ausgiebiger stattfindet, je dicker die Schicht der Nährlösung ist.

Zum Schluß fragt Verf., wie es kommt, daß die nitrifizierenden Bakterien ohne Chlorophyll und ohne Mitwirkung des Lichtes ihren Kohlenstoff aus Kohlensäure gewinnen können, was notwendig mit einer Reduktion der letzteren verbunden sei. Er beantwortet diese Frage dahin, daß die zur Reduktion der Kohlensäure erforderliche aktuelle Energie, welche bei grünen Pflanzen von den durch das Chlorophyll absorbierten Lichtstrahlen geliefert wird, hier durch die Oxydation des Ammoniaks gegeben sei. Wahrscheinlich seien zur Ernährung auf Kosten von Kohlensäure nicht nur die nitrifizierenden Bakterien, sondern überhaupt alle diejenigen chlorophyllfreien Organismen befähigt, welche mineralische Substanzen oxydieren.

W. Rothert (Kazan).

Schönfeld, F., Das Hefenwachstum in der Hauptgärung bei untergärigem Bier. (Wochenschr. für Brauerei. 1896. No. 18. p. 421.)

Durch die Untersuchungen von Mohr[1]) war festgestellt, daß die Hefenvermehrung im Gärbottich nur in der ersten Zeit der Gärung, in den 4—5 ersten Tagen, stattfindet und aufhört, sobald 3,75—3,85 Proz. vom Extrakt vergoren sind. Die Zahl der Zellen hatte sich von 10,7 bezw. 12,2 bis auf 37,8 bezw. 40,0, bezogen auf eine Zählkammereinheit[2]), vermehrt. Die Beobachtungen Mohr's fand der Verf. im großen und ganzen bestätigt, indes konnte niemals eine Zellenzahl von 37 in der Zählkammereinheit während der höchsten Wachstumsperiode konstatiert werden, im Gegenteil blieben die gefundenen Zahlen hinter den Mohr'schen bedeutend zurück.

Für die Einheit wurde im Durchschnitt eine zwischen 6,5 und 9,0 liegende Zahl in mit Hefe frisch angestellter Bottichwürze bei einer Hefengabe von etwas weniger als $^1/_2$ l pro hl Würze ermittelt.

Bezüglich der Hefenvermehrung in Beziehung zur Saccharometerabnahme ergab sich, daß dieselbe im Bottich beendet ist, wenn vom Extrakt etwa 3,6—5,0 Proz. vergoren sind. Nach einer scheinbaren Extraktabnahme von 2,5 Proz. war die Hefenvermehrung fast auf dem Kulminationspunkt angelangt und erfuhr von da an nur eine ganz unbedeutende Zunahme. Aus dem zur Verfügung stehenden reichen Material wurden drei typische Gärungen ausgewählt und an ihnen die Vermehrung der Zellen und die Abnahme der Extraktprozente in graphischer Darstellung veranschaulicht.

Ist mit dem Beginn des Absetzens der Hefe das Wachstum beendet? Mohr nahm an, ohne den Beweis dafür zu erbringen, daß das Hefenwachstum, sobald eine Abnahme des Hefenbestandes im Bottichbier konstatiert war, dann abgeschlossen sei. Der experimentelle Beweis zur Entscheidung dieser Frage wurde vom Verf. durch

1) Wochenschr. f. Brauerei. 1886. p. 210.

2) Das ist derjenige Raumteil, der zur Grundfläche ein Quadrat von 0,05 mm Seitenlänge hat und dessen senkrecht zur Grundfläche gedachten Seitenflächen eine Höhe von 0,2 mm betragen, also ein Rauminhalt von 0,0005 ccm.

Probenahmen mittelst eingehängter Schalen geführt. Es ergab sich, daß bei Zugrundelegung der nur im Bier schwebenden Zellen die Vermehrung in dem dem Versuche dienenden Bottiche nicht über 26,4 Zellen hinausging und von da an, wie die Abnahme in der Zahl der Hefezellen im Bottichbier zeigte, sogleich ein Absetzen der Hefe eintritt, während bei Berücksichtigung des Bodensatzes die Zellenzahl eine, wenn auch unwesentliche Steigerung auf 27,6 erfährt und nach weiteren zwei Tagen sich noch bis auf 28,6 erhöht. Zellen mit kleinen Sprossen konnten auch nach eingetretener Flockenbildung noch bemerkt werden.

Nach Beobachtungen von Holderer[1]) setzt sich die Hefe während der Gärung nicht gleichmäßig und in ruhiger Folge ab, sondern sie hebt sich vom Boden und fällt wieder zurück. Holderer schloß dies durch Versuchsanstellung mittelst eingehängter Schalen. Er fand durch Zusammenaddieren der einzelnen Tagesschichten am Schluß der Gärung eine Hefenschicht von 8—11 cm, der in Wirklichkeit eine Hefenschicht nach beendeter Gärung von 2,5—3 cm entsprach. Verf. hält diese Folgerung nicht ohne weiteres für richtig. Die Differenzen in den Höhenschichten können sich auch dadurch erklären lassen, daß frisch abgelagerte Hefe einen unter Umständen viermal so großen Raum einnimmt (was auch den von Holderer beobachteten Messungen entspricht) als eine mehrere Tage lagernde Hefe. Ein sicherer Anhalt für das Aufhören der Hefenvermehrung läßt sich aus dem innerhalb eines Tages nach der höchstgezählten Hefezahl gebildeten Hefesatze nicht gewinnen.

(Die Beobachtung Holderer's konnte der Ref.[2]) bestätigt finden. Bei Versuchen, welche in der Praxis ausgeführt wurden, um eine mit wilder Hefe infizierte Brauereiunterhefe durch natürliche Reinzucht von ersterer zu befreien, ergaben quantitative Bestimmungen, daß die Verunreinigung in der am Schluß der Hauptgärung gewonnenen Kernhefe eine größere war, als nach dem Ergebnisse der Untersuchung der einzelnen Schichten in den eingehängten Schalen, die zu verschiedenen Zeiten dem Bottich entnommen wurden, zu erwarten war. Dieser Befund deutet darauf hin, daß in der That solche Mischungen der Schichten durch wiederholtes Aufsteigen und Fallen der Hefe bis zum Ende der Gärung stattfindet. Daß sich aber die von Holderer beobachteten Differenzen in der Höhe der durch Zusammenaddieren der einzelnen Schichten gefundene Zahl und der am Schluß der Gärung ermittelten, allein durch eine beständige steigende und fallende Bewegung der Hefen in den einzelnen Schichten erklären läßt, ist unwahrscheinlich, vielmehr dürften sie, und wohl zum vorwiegenden Teile, ihre Erklärung in der vom Verf. ausgesprochenen Ansicht finden. Der Ref.)

Versuche über Beziehungen zwischen den Aussaatmengen und der Hefenernte (die durch Zählung ermittelt wird) sind im Gange. Einige bis jetzt ausgeführte Zählungen ließen keine Regelmäßigkeit konstatieren. Einmal erzeugte eine Zelle 1,5 neue, ein andermal

---

1) Wochenschr. f. Brauerei. 1895. p. 599.
2) Wochenschr. f. Brauerei. 1895. p. 599.

2, 2,5 und in einem Falle sogar 5 Zellen. Der Vermehrungskoëffizient schwankt demnach in weiten Grenzen. Die Hefenvermehrung scheint aber immer einer absoluten Höchstzahl in der Volumeneinheit zuzustreben, ganz gleich, ob wenig oder ob viel Hefe ausgesäet wird. Nur müssen die Bedingungen für ein gutes Wachstum vorhanden sein. Je geringer die Aussaat, um so größer der Vermehrungskoëffizient, je größer die Aussaat, um so kleiner der Koëffizient. Nach Untersuchungen von Adrian Brown [1]) konnten bei verschiedenen Mengen der Hefenaussaat gleiche Hefenernten erzielt werden; Thausing giebt an, daß bei großen Hefengaben die Ernten geringer seien als bei kleinen Hefengaben. Diese Widersprüche finden ihre Erklärung wahrscheinlich in den verschiedenartigen Versuchsbedingungen. Thausing's Angaben beziehen sich auf die Praxis; er bestreitet auch den Einfluß der Temperatur der gärenden Würze auf die Hefenernten, er kennt nur eine Begünstigung in der Geschwindigkeit der Zellenneubildungen durch höhere Temperatur. Delbrück und Balcke fanden, daß von einer stickstoffarmen Hefe bei niedriger Temperatur mit wachsendem Saatgut auch mehr Hefe geerntet wurde. Der Verf. beobachtete, daß Temperaturführung und Lüftung nicht ohne Einfluß auf die Vermehrung im Gärbottich sind. Die von Gärung zu Gärung abnehmende Erwärmung geht Hand in Hand mit der Verminderung des Hefenwachstums, die Hefe selbst wird stickstoffreicher. Bei energischer Lüftung erfährt das Wachstum wieder eine beträchtliche Erhöhung und der Stickstoffgehalt der Hefe nimmt ab. Die Beobachtungen Hayduck's und Kempe's finden durch diese Ergebnisse demnach eine Bestätigung.

Ueber die Ursachen der Flockenbildung ist man noch nicht völlig im Klaren. Neben der Ausscheidung von Schleim dürfte die Art der Stickstoffkörper in der Würze und ihre Assimilationsfähigkeit durch die Hefe, die Schwere der Zellen, Uebersättigung mit bestimmten Nährstoffen und dergl. mehr eine sehr bedeutungsvolle Rolle spielen. Vielfach tritt bei einer wärmeren Gärführung bessere Flockung (Bruch) ein, als wenn die Hefe kalt geführt wird (Windisch). Verf. konnte bei parallel verlaufenden, teils warm, teils kalt geführten Gärungen, eine Beschleunigung der Bruchbildung bei den warm geführten Gärungen nicht gerade in markanter Weise erreichen. Häufig beobachtet man, daß die aus dem Reinzuchtapparat entnommene Hefe bei der ersten Gärung gar keinen Bruch giebt, doch hat man auch gegenteilige Erfahrungen gemacht.

Da der Stickstoffgehalt der Hefe von Gärung zu Gärung zunimmt und damit auch, falls nicht durch starke Lüftung wieder Stickstoff entzogen wird, die Bruchbildung immer schlechter wird, so hat wahrscheinlich der Amidstickstoff, der am leichtesten von der Hefe aufgenommen wird, einen Einfluß auf eine schlechtere Bruchbildung.

Gute Bruchbildung trifft oft mit niedrigerer Vergärung zusammen. Im großen und ganzen erreicht man bei größerer Hefengabe ein schnelleres Durchfallen der Biere. Durch kräftiges Aufziehen

1) Wochenschr. f. Brauerei. 1890. p. 355.

(Bewegung der gärenden Würze) läßt sich eine Erhöhung des Vergärungsgrades erreichen.

Die Frage, wie viel Hefezellen (in der Volumeneinheit) kommen mit dem Bier auf das Lagerfaß? läßt sich nach dem Verf. folgendermaßen beantworten:

Bei feinem, sehr gutem Bruch enthält das Bier etwa 0,2 bis 0,4 Zellen in der Volumeneinheit;
bei noch gutem, griesigem Bruch etwa 0,4—0,7 Zellen;
bei mäßigem Bruch etwa 0,7—1,0 Zellen;
von 1,0 Zellen an ist der Bruch sehr mäßig;
von 1,5 Zellen an würde das Bier bereits ein lehmiges Aussehen besitzen. Die Grenzzahlen dürften zwischen 0,2 und 3,0 schwanken, sofern der Verlauf der Gärungen normal und die Hefe normal ist.

Die Durchschnittszahl für die Hefenaussaat ergab 7,3 Zellen pro Vol.-Einheit. Es wurde eine durchschnittliche Vermehrung bis auf 27 Zellen, also von 1 : 3,7 erhalten.

Bei sehr gutem Bruch kommen auf das Lagerfaß 1,1 Proz. der Gesamthefenmenge, bei mäßigem Bruch erhebt sich der Gehalt an suspendierten Hefen auf 2,5—5 Proz. der Gesamthefenmenge. Auf dem Lagerfaß schreitet die Klärung so weit vor sich, daß im konsumreichen Bier etwa 10 Zellen im Kubikmillimeter suspendiert sind, wobei das Bier schon absolut klar und feurig ist, die Zahl kann selbst noch tiefer, auf 0,1 und darunter, zurückgehen. Frisch angestelltes Bottichbier enthält im Kubikmillimeter durchschnittlich 14600 Zellen, die sich auf rund 54000 Zellen vermehren können; bei vorzüglichem Bruch bleiben im Bier, wenn es auf das Lagerfaß kommt, etwa 500—600 Zellen, bei mäßigem Bruch 1500—2000 Zellen.

Munsche (Wandsbek-Hamburg).

Seyffert, H., Einiges über Reinzuchthefen und ihre Ernährung. (Zeitschr. f. gesamte Brauwesen. 1896. No. 23. p. 318.)

Eine Reinzuchthefe, welche 2 Jahre lang zur vollständigen Zufriedenheit in der Praxis gearbeitet hatte, verlor nach und nach den schönen Bruch und nahm einen fremdartigen Geruch an, so daß sie verworfen werden mußte. Die Ursache dieser auffallenden Erscheinung wurde zunächst in der Kulturmethode gesucht, aber alle Variationen beim Züchten der Hefe, beim Sterilisieren und Lüften der Würze in den Würzecylindern, alle Variationen in der Führung der Gärungen in den Gärcylindern der Hefenapparate führten zu keinem völlig befriedigenden Resultate. Es mußte also unbedingt in der Würze ein Fehler vorhanden gewesen sein. Maltose-, Dextrin-, Maltodextrin-, Stickstoff-, Säure- und Gesamtaschengehalt waren stets normal, dagegen fiel der geringe Kalkgehalt und der hohe Magnesia- und Phosphorsäuregehalt auf. Eine Reihe von Hefeaschenanalysen zeigte, daß die Zusammensetzung derselben in gewisser Relation zu der Zusammensetzung der Würzeasche steht. Ganz verschiedene Heferassen verschiedener Herkunft, mit ganz verschiedenen Eigenschaften zeigen, in derselben Würze kultiviert, nahezu die gleiche Zusammensetzung ihrer Asche.

Der Kalkgehalt der von auswärts bezogenen Hefen nahm in den

Würzen rasch und stark ab; wurde dagegen Kalk zur Würze hinzugesetzt, so stieg auch sofort der Kalkgehalt der Hefe. Auch beim Wässern der Hefe fand eine bemerkbare Aufnahme von Kalk statt.

Die Richtigkeit der aus den Aschenanalysen gezogenen Schlüsse, daß in dem vorliegenden Falle der geringe Kalkgehalt der Würze die Ursache der Hefedegeneration war, wurde durch das Experiment bestätigt. Die Hefen zeigten bei Zusatz von Gyps zur Würze und zum Brauwasser schon im kleinen Kolben die Fähigkeit, nach dem Aufschütteln sich zusammenzuballen, sowie „griesig" durchzufallen und nahmen auch sonst wieder normale Eigenschaften an.

Die Anwesenheit von Kalk als Nährstoff in der Würze ist es aber nicht allein, welche günstig auf die Hefeernährung wirkt, sondern der Kalk spielt schon beim Weichen und Mälzen, vielleicht auch beim Darren, höchstwahrscheinlich aber beim Maischen eine wichtige Rolle in dem Sinne, daß er den Boden für eine normale Ernährung und Entwickelung der Hefen vorbereitet, und zwar allem Anscheine nach durch seine Einwirkung auf die organischen Bestandteile der Würze.

Die Entnahme von Kalk aus den ohnehin kalkarmen Würzen rief starke Blasengärung hervor. H. Will (München).

van Breda de Haan, J., De Bibitziekte in de Deli-Tabak veroorzaakt door Phytophthora Nicotianae. (Met plaat.) (Mededeelingen uit 's Lands Plantentuin. XV.) Batavia-'s Gravenhage 1896.

Die vorliegende Publikation enthält in ausführlicher Darstellung die endgiltigen Ergebnisse der mehrere Jahre hindurch fortgesetzten Untersuchungen des Verf.'s über die Setzlingkrankheit des Tabaks, über die er schon Ende 1893 in dem „Voorloopig Rapport over de Bibitziekte in de Tabak" sich ausgesprochen hat.

Die Erkrankung, welche eine Zeitlang das Fortbestehen der Tabakkultur überhaupt in Frage zu stellen schien, hat ihr hauptsächlichstes Verbreitungsgebiet in dem durch Produktion eines vorzüglichen Deckblattes berühmten Distrikt Deli auf der Ostküste Sumatras, ist jedoch auch in Java und auf Borneo nicht unbekannt. Von jeher sporadisch auftretend, hat sie erst infolge der großen Schädigungen im letzten Jahrzehnt die allgemeine Aufmerksamkeit auf sich gezogen. Je nach dem Alter der befallenen Pflanzen und je nach dem Pflanzenteil, der befallen wird, ist das Krankheitsbild ein sehr verschiedenes. Die Blätter junger Pflanzen erliegen sehr bald und vollständig der Krankheit, und bilden dann eine graugrüne schleimige, wie verbrüht aussehende Masse, welche den Boden des Saatbeetes bedeckt. An den Blättern älterer Pflanzen tritt die Krankheit in einzelnen, bald vertrocknenden Flecken auf. Werden die Wurzeln oder der an den Boden grenzende Stengelteil älterer Pflanzen befallen, so wird die Rinde faul, der Pilz, der die Krankheit erzeugt, dringt in die Gefäße vor, und die Pflanze geht an Wassermangel zu Grunde. Selbst am Dach kann der Pilz noch auf den Stengeln der geernteten Pflanzen auftreten und dieselben vorzeitig abtöten.

Der Pilz, der die Krankheit verursacht, und der unzweifelhaft zu Phytophthora gehört, verbreitet sich bei dichtem Stande der

Pflanzen und genügender Luftfeuchtigkeit direkt von Pflanze zu Pflanze, indem er durch die Luft und über den Boden spinnwebartige Mycelfäden treibt. Trocknen diese, so zieht sich ihr Inhalt in einzelne Gemmen zusammen, die sich beiderseits durch eine Zellwand abgrenzen und unter günstigen Bedingungen wieder auskeimen. Konidien entstehen an den durch die Spaltöffnungen austretenden Konidienträgern des meist intercellular wachsenden Pilzes in der Regel in der Einzahl. Ihre Gestalt ist birnförmig, ihre Maße sind $36 \times 25\ \mu$. Sie keimen, indem sich aus ihrem Inhalt 10—15 Schwärmsporen bilden, in Schleim gehüllt aus dem verschmälerten Ende der Konidie austreten und sich dann vereinzeln. Zur Ruhe gekommen, treiben sie Keimschläuche. Nur wenige, unreife Konidien treiben direkt einen Keimschlauch, der sofort wieder eine Konidie erzeugt, die in gewöhnlicher Art keimt. Oosporen und Antheridien werden ähnlich wie bei den anderen Phytophthora-Arten angelegt; die Befruchtung weicht von diesen insofern ab, als das Antheridium wie bei der Gattung Pythium seinen Inhalt vollständig in das Ei entleert. Die Oospore bleibt bis zur Keimung, die nach einer Ruheperiode erfolgt, von der Oogonwand umhüllt, und treibt dann einen Keimschlauch. Die Maße der Konidien legen die Vermutung nahe, daß der Pilz der Bibitseuche mit Phytophthora phaseoli Thaxt. identisch sei, um so mehr, da er auch auf anderen Pflanzen der Tabakfelder und ihrer Umgebung vorkommt und nicht auf die Tabakpflanze beschränkt ist. Da die erwähnte Vermutung jedoch durch Infektionsversuche sich aus äußeren Gründen nicht sicherstellen ließ, so stellt Breda de Haan für den Urheber der Bibitkrankheit die Art Phytophthora Nicotianae auf.

Bei den Reinkulturen des Pilzes auf den verschiedensten Nährböden, unter denen insbesondere 5-proz. Rohrzuckerlösungen seinem Gedeihen günstig waren, wurde die Beobachtung gemacht, daß Licht und Lufttrockenheit dem Pilze sehr schädlich sind. Tabakblätter, mit den Sporen des Pilzes besät, erlagen demselben im Dunkeln weit eher als im Lichte. Die Konidien und die Schwärmsporen wurden durch Austrocknen sehr bald getötet, die Oosporen waren allerdings widerstandsfähiger, woraus sich erklärt, daß der Boden erkrankter Saatbeete eine stete Quelle weiterer Ansteckung bleibt. Das direkte Sonnenlicht tötet aber auch die Oosporen in relativ kurzer Zeit. Diese Beobachtungen, zusammen mit den bekannten Erfahrungen über die hervorragend giftigen Wirkungen der Kupferpräparate auf die keimenden Peronosporeen-Sporen, wurden benutzt, um der Krankheit entgegenzutreten.

Bei einem Versuch, bei dem von 4 Parzellen eines Sämlingsbeetes je 2 mit Konidien resp. Oosporen infiziert waren, und bei dem nun je eine der beiden auf verschiedene Weise infizierten Parzellen beschattet, die andere dem Lichte mehr ausgesetzt wurde, bestätigte sich die hemmende Wirkung, welche Belichtung auf das Wachstum des Pilzes ausübt, trotz ungünstiger, trüber Witterung, die zunächst zur Folge hatte, daß auf allen 4 Parzellen die Krankheit ausbrach. Später erlosch dieselbe aber auf den 2 nichtbeschatteten Parzellen, so daß schließlich diese allein einen Bestand von Setzlingen aufwiesen.

Bei darauf gerichteten weiteren Versuchen zeigte sich auch bald, daß die Tabaksetzlinge ein weit höheres Maß an Licht sowie weit weniger Feuchtigkeit, als ihnen bei der landesüblichen Kulturmethode zu teil wird, nicht bloß gut vertrugen, sondern darauf sogar mit weit besserem Gedeihen reagierten, sowie daß die Kupferpräparate (Kupferkalkmischung) für die Pflanzen unschädlich sind.

Auch bei Versuchen im Großen bewährten sich die demnach angezeigten Kulturmaßregeln, Trockenhalten der Saatbeete (nur alle 2—3 Tage spritzen statt wie sonst mindestens 2mal täglich, Bedecken beim Regen), Zulassen von mehr Licht und endlich Spritzen mit Bordelaiser Brühe; auch Umfragen bei den Administrationen in einzelnen Unternehmungen bestätigten die günstige Wirkung der oben bezeichneten, neu eingeführten Erziehungs- und Behandlungsmethode, insbesondere des Kupferns.

Die Seuche, welche den Tabakbau Delis mit dem vollständigen Ruin bedrohte, hat infolge der Resultate, die Breda de Haan bei seinen Untersuchungen erzielt hat, ihren bedrohlichen Charakter vollständig verloren. Behrens (Karlsruhe).

Brizi, U., Eine neue Krankheit (Anthracnose) des Mandelbaumes. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. 1896. p. 65.) Mit Tafel.

In Mandelpflanzungen auf Sardinien ist eine Krankheit aufgetreten, die namentlich die jungen Früchte und Zweige ergreift. An ersteren zeigt sich unmittelbar nach dem Verblühen ein gelbbraunes Pünktchen, das sich bald vergrößert und dann gelblich wird. Gleichzeitig fällt mit der Vergrößerung des Fleckens auch die äußere Behaarung der Hülle ab. Wenn die Hülle jetzt zu wachsen beginnt, so dehnt sich auch der Flecken aus, so daß schließlich eine wundartig vertiefte Stelle entsteht, deren Ränder zurückgebogen sind. Die innere Schicht der Hülle verholzt nicht mehr, sondern wird weich und fault. Dadurch wird auch der Same gefährdet. Häufig dringen von entgegengesetzter Seite zwei solcher Wunden ins Innere vor und durchbohren die Frucht vollständig.

An jungen Zweigen entstehen wundartige Vertiefungen, die die Rinde zerstören. Mit der Unterdrückung der Blattentwickelung stirbt dann das Aestchen ab.

Als Ursache dieser Erkrankung ergab sich ein Pilz, der immer anwesend war, Gloeosporium amygdalinum nov. spec. Verf. hat den Bau des Mycels näher studiert und sein Verhalten zu Eisenchlorid geprüft. Die Konidien keimen sehr schnell aus und bilden in Nährlösung ausgedehnte Mycelien. Bei einer Temperatur von 14—18° C blieb das Mycel steril, bei 22—26° C dagegen bildete es Fruktifikationsorgane. Daraus dürfte sich ein Fingerzeig für die Verbreitung des Pilzes ergeben. Wenn die Temperatur kurz nach der Mandelblüte niedrig ist, so wird die Verbreitung nur gering sein, weil sich die Konidien nicht entwickeln. Steigt dann die Temperatur, so verholzt die innere Schicht der Hülle bereits, so daß eine Schädigung der Früchte ausgeschlossen erscheint. Dagegen würde eine von Anfang an hohe Temperatur die Ausbreitung wesentlich fördern.

Verf. hat auch Infektionsversuche an Früchten vorgenommen. Jedoch gelangte er nur in einem Falle zu einem nicht ganz einwandsfreien Resultate. Als Bekämpfungsmittel ergab sich das Bespritzen mit Kupferpräparaten. Lindau (Berlin).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Dr. Wilhelm Windisch.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

v. Baumgarten, P. und **Roloff, F.**, Jahresbericht über die Fortschritte in der Lehre von den pathogenen Mikroorganismen, umfassend Bakterien, Pilze und Protozoen. IX. 1893. Abt. 2. Braunschweig (H. Bruhn) 1896. 13 M.

Gautier, A., Les toxines microbiennes et animales. gr. 8°. Paris (Soc. d'éditions scientifiques) 1896. 15 fr.

Lodeman, E. G., The spraying of plants. A succinct account of the history, principles, and practice of the application of liquids and powders to plants for the purpose of destroying insects and fungi. 418 p. London (Macmillan) 1896. 4 sh.

Lortet, L., Influence des courant induits sur l'orientation des Bactéries vivantes. (Compt. rend. CXXII. 1896. p. 892.)

Magnus, P., Nachtrag zu der Aufzählung der Peronosporeen, Exoasceen und Ustilagineen der Provinz Brandenburg. (Verhandl. d. Bot. Ver. d. Prov. Brandenb. 1895. p. 1.)

Marchal, E., Les champignons coprophiles de Belgique. VIII. (Bull. de la soc. roy. de Belgique. Vol. XXXIV. 1896. p. 125. Avec tab. 2.)

Sternberg, G. M. M. D., A text-book of bacteriology. gr. 8°. New York (W. Wood & Co.) 1896. 5,50 $.

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Bütschli, O., Weitere Ausführungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Im Anschlusse an meine Abhandlung aus dem Jahre 1890. gr. 8°. III, 87 p. Mit 2 Lichtdr.- u. 3 lith. Taf., sowie 6 Textfig. Leipzig (Wilhelm Engelmann) 1896. 6 M.

Lubbert, A., Ueber die Natur der Giftwirkung peptonisierender Bakterien der Milch. (Ztschr. f. Hygiene. Bd. XXII. 1896. p. 1—11.)

Magnus, P., Eine neue Uredineengattung Schroeteriaster, gegründet auf Uromyces alpinus. (Ber. d. deutsch. Bot. Ges. 1896. p. 129. Mit Tab.)

— —, Eine schärfere Unterscheidung des Uredo zweier Uredineen auf nahe verwandten Wirtspflanzen und eine daraus resultierende Berichtigung. (Verhandl. d. Bot. Ver. d. Prov. Brandenb. 1896. p. 11. Mit Fig.)

Omori, J., Some remarks on Mr. Takahashi's. Paper on the identity of Ustilago virens Cke. and Ustilaginoidea Oryzae Bref. (The Tokyo Botan. Mag. 1896. Pt. II. p. 29. With fig.)

Rénon, Attenuation de la virulence des spores de l'Aspergilllus fumigatus dans les très vieilles cultures. (Compt. rend. de la Soc. de biol. 1895. No. 35. p. 744.)

Setchell, W. A., Ocilatoria trapezoidea filden. (Erythea 1896. p. 69.)

Tassi, F., Di alcune specie nuove di Micromiceti. (Atti della R. Accad. dei Fisiocrit. Siena. 4 ser. vol. VIII. 1886.) N. A.

— —, Altre specie nuove di micromiceti. (l. c.)

Thiele, R., Die Temperatursteigerungen der Schimmelpilze in verschiedenen Nährlösungen. [Inaug.-Diss.] Leipzig (O. Schack) 1896. 1,50 M.

Mikroskopie.

Zimmermann-Buscaglione, Il microscopia. gr. 8°. Unione tip editrice. 8 £.

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Hallier, Ernst, Die Hefe der Alkoholgärung, insbesondere der Biergärung. Mit zwei Tafeln. Weimar (Karl Steinert). 2 M.

Kayser, E., Contribution à la fabrication du vin d'orge. (Annales de l'Institut Pasteur. Année X. 1896. No. 6. p. 346.)

Molkerei.

Knebel, Die Bedeutung der Bakteriologie auf dem Gebiete der Milchwirtschaft. (Fühling's landwirtschaftl. Zeitung. 1896. Heft 3. p. 90—91.)

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Bolley, H. L., The constancy of Bacterial species in normal fore milk. (The American Naturalist. 1896. p. 184.)

Park, Wm. H., Beebe, A. L. and **Williams, A. W.**, Study of a Bacillus resembling the bacillus diphtheriae, found in milk and American cheese. (Scient. Bullet. No. 2. Health Departm., city of New York. 1895. p. 10—13.)

Luft, Wasser, Boden.

Amthor, Carl und **Zink, Julius**, Untersuchungen des Rheinswassers. (Journ. d. Pharm. von Elsaß-Lothringen. 1896. No. 23. p. 144.)

Cramer, E., Ueber die Beschaffenheit des Heidelberger Trinkwassers. [Aus: Verhandlgn. d. naturhist.-med. Vereins zu Heidelberg.] gr. 8°. 19 p. mit 3 Doppeltafeln. Heidelberg (Karl Winter) 1896. 1 M.

Dyar, H. G., On certain Bacteria from the air of New York City. (Ann. of New York Ac. of Sc. VIII. 1896. p. 322.

Loeffler, F., Oesten, G., Sendtner, R., Wasserversorgung, Wasseruntersuchung und Wasserbeurteilung. Mit Beiträgen von Th. Weyl. (Handbuch der Hygiene, herausgeg. von Th. Weyl. 24. Lfg.) gr. 8°. Jena (Fischer) 1896. 4,50 M.

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Aderhold, R., Cladosporium und Sporidesmium auf Gurke und Kürbis. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1896. p. 72.)

Arthur, J. C. and **Bolley, H. L.**, Bacteriosis of the Carmations. (Purdue University Agricultural Experiment Station. Bulletin LIX. 1896.) 8°. 38 pp. 8 pl. Lafayette, Ind. 1896.

Baine, S. M., Fungicides on Peach Foliage. (Bull. Tenn. Exper. Stat. 1895. No. 8. p. 34.)

Beach, S. A., Plum Leaf Spot, Cherry Leaf Spot and Fruit Rot. (New. York Agric. Exp. Stat. Bull. 1896. No. 98. Genera. With tab. 8°.)

Cooley, Robert A., The imported Elm Leaf Beetle, Maple, Pseudococcus, Abbot Sphinx, Lan José Scale. (Hatch Experiment Station of the Massachusetts Agricultural College. Bulletin No. XXXVI. 1896.) 8°. 20 pp. Fig. Amherst, Mass. 1896.

Craig, T., A rare Fungus parasitic on an Oscillaria. (Proc. Nat. Sci. Assoc. Staten Island. Vol. V. 1896. p. 17.)

Debray, F., Nouvelles recherches sur la brunissure. (Compt. rend. de l'Académie des sciences de Paris. T. CXX. p. 942—945.)

Hennings, P., 1) Lenzites abietina Fr., ein Zerstörer des Fichtenholzes in Wohngebäuden. 2) Cerastomella pilifera (Fr.) Wint. etc. (Verhandl. d. Bot. Ver. d. Prov. Brandenburg. 1895. p. LVIII.)

— —, Ueber eine auffällige Zellenkrankheit nordamerikanischer Abies-Arten im Berliner Botanischen Garten, verursacht durch Pestallozia tumefaciens P. Henn. n. spec. (Verhandl. d. Bot. Ver. d. Prov. Brandenb. 1895. p. XXVI.)

Honda, Seiroku, Ueber die Entstehung der Verkümmerungen an Yotsuyamaruta, Sugi-Stangenholz. (Imperial-University. College of Agriculture. Bulletin Vol. II. Tokyo 1896. p. 387—390.)

Hori, S., On the Smut of Japanese Cereals. (The Tokyo Bot. Magaz. 1896. Pt. I. p. 76, 115.) Japan.

Ignatieff, V., Destruction par le Merulins lacrymans du plancher d'une salle d'hôpital à Moscou. (Revue d'hygiène 1896. p. 10.)

Judeich J. F. und Nitsche, H., Lehrbuch der mitteleuropäischen Forstinsektenkunde. Als 8. Auflage von J. T. C. Ratzeburg, „Die Waldverderber und ihre Feinde" in vollständiger Umarbeitung herausgegeben. Bd. I, II. Unveränderter Abdruck der I. Abteilung. p. 1—264. Mit Ratzeburg's Bildnis, 8 col. Tafeln und 352 Textabbildungen. 8⁰. XXXII, XXII. 1421 pp. Berlin (P. Parey) 1896. 40 M.

Ludwig, F., Sur les organismes des écoulements des arbres. (Revue mycologique. 1896. p. 45—53.) [A suivre.]

Michie, C. Y., The Sarch Disease. (The Gardeners Chronicle. Ser. III. Vol. XIX. 1896. p. 434.

Prillieux, E., Sur une maladie de la Chicorée, producte par le Phoma albicans Rob. et Dehn., forme pycnide de Pleospora albicans. (Bull. de la Soc. Myc. de France. 1896. p. 82.) With fig.

Renard, A., Les ennemies de la betterave et les moyens dex les combattre. 8⁰. 40 pp. Liége (L. Demarteau) 1896. 0,50 fr.

Renesse, A. von und Karus, L., Krankheiten der landwirtschaftlichen Kulturgewächse und deren Verhütung. (Landw. Zeit. XIV. 1896. p. 21.)

Rostrup, E., Oversigt over Sygdommenes Optraeden hos Landbrugets Aolsplanter i Aaret 1894. (Tidskrift for Landbrugets Planteaol. II. 1896. p. 40—79.)

— —, Vaertplantens Indflydelse paa Udviklingen af mye Arter af parasitiske Svampe. (Overs. ov. det k. Danske Vidensk. Selsk. Forhandl. 1896.)

Roze, E., Sur les Bactériacées de la Pomme de terre (Bull. de la Soc. Myc. de France" 1896. p. 55.)

— —, Sur deux nouvelles Bactériacées de la Pomme de terre. (Compt. rend. CXXII. 1896. p. 750.)

Sadebeck, Beobachtungen und Bemerkungen über die durch Hemileia vastatrix verursachte Blattfleckenkrankheit der Kaffeebäume. (Sep.-Abdr. aus Forstlich-Naturwissenschaftl. Zeitschrift. Jahrg. IV. 1895. Heft 8. 8 pp.)

Selby, A. D., The Smut of Oats and its preventive. (Bull. of the Ohio Agric. Exp. Stat. Wooster. 1896. Bull. No. 64.)

Sorenner, P., Ueber eine in Ungarn aufgetretene Kartoffelkrankheit. (Verhandl. d. Bot. Ver. d. Prov. Brandenb. 1895. p. XLII.)

Sturgis, W. C., A leaf earl of Blum. (19. Ann. Rep. of the Connecticut Agric. Exp. Stat. for 1895. New Haven 1896. p. 183. With tab.)

— —, Transplanting, as a preventive of smut upon onions. (19. Ann. Rep. of the Connecticut Agric. Exp. Stat. for 1895. New Haven 1896. p. 76. With fig.)

Swingle, W. T. and Webber, H. J., The principal diseases of Citrons Fruits in Florida. (N. S. Dept. of Agric. Dio of Veget. Phys. and Path. Bull. 1896. No. 8. Washington 1896. With tab. 8⁰.)

Takahashi, Y., On Ustilago virens Cke. and a new species of Tilletia parasitic on Rice plant. (The Tokyo Bot an Magaz. 1876. Pt. II. p. 16. With tab.)

Underwood, L. M. and Earle, L. S., Treatment of some fungeons diseases. (Alabama Agricultural Experiment Station of the Agricultural and Mechanical College. Auburn. Bull. No. 69. 1896. p. 245—272.)

Vuillemin, P., Quelques champignons arborier les nouveaux ou peu connus. (Bull. de la Soc. Myc. de France. 1896. p. 33.) N. A.

Wakker, J. H. en **Went, F. A. F. C.**, Oberzicht van de Ziekten van het Suikerriet op Java I. (Arch. voor de Java-Suikerindustrie. 1896. Afl. 9. Met tab.)

Webster, A. D., Pinus Pinaster prolifera. (The Gardeners Chronicle. Ser. III. Vol. XIX. 1896. p. 420. Fig.)

Went, F. A. F. C., Het Zuur Rot. (Sep.-Abdr. aus Archief voor de Java-Suikerindustrie. Afl. 6. 1896.) 8°. 12 pp. 1 plaat. Soerabaia (Van Jagen) 1896.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Migula, Ueber einen neuen Apparat zur Plattenkultur von Anaëroben. (Dtsche. tierärztl. Wchschr. 1895. No. 52.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Barthel, G., Formaldehydlauge für Desinfektionszwecke. (Chemiker-Ztg. Rep.-No. 17. Jahrg. XX. 1896. p. 188.)

Canalis, Experienze zugli apparecchi di disinfezione a vapore e sui metodi più adatti per controllarne il funzionamento. (Rivista d'igiene e sanità publica. Anno VI. 1895.)

Dräer, A., Die im Laufe der letzten Jahre in Gebrauch gekommenen und wissenschaftlich geprüften Desinfektionsmittel. Zusammenfassende Uebersicht. (Hygien. Rundschau. 1896. No. 9, 10. p. 389—408, 446—462.)

Gayon, H. U., Etude sur les appareils de pasteurisation des vins. (Extract de la Revue de Viticulture. 1896.) In-8°. 63 pp. Avec fig. Paris (les Libraires associés) 1896.

Halsted, B. D., Fungicides and Spraying. (Report of the Botan. Departm. of the New Yersey Agr. Coll. Exp. Stat. f. the year 1895. Trenton 1896. p. 319.)

Unterwood, L. M. and **Earle, F. S.**, Treatment of some fungeous diseases (Alabama Agric. Exp. Stat. of the Agric. and Mech. Coll. Aubum. Bull. No. 69. 1896. p. 425.)

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Referate.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

1896. Centralblatt Bd. II. No 14.
für Bakteriologie und Parasitenkunde.
II. Abteilung.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Prof. Dr. **M. W. Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

II. Band. Jena, den 8. August 1896. **No. 15.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige ***Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original-Mittheilungen.

Ueber Nitrat zerstörende Bakterien.

[Mitteilung der landw. Versuchsstation in Bonn.]

Von

A. Stutzer und **R. Maul.**

Im Jahrgang 1895 dieser Zeitschrift wurden von Burri und Stutzer Mitteilungen über 2 verschiedene Arten Nitrat zerstörender Bakterien gemacht, deren Eigenschaften in mehrfacher Hinsicht sich unterschieden. Ein Unterschied bestand darin, daß bei reichlichem Zutritte von Luft die Gärwirkung des Bact. denitrificans II auf-

gehoben wurde, während dies nicht bei Bact. denitrificans I (plus coli) der Fall war. Auf p. 430 heißt es: „Als wir Erlenmeyerkolben mit Nitratbouillon in ca. 1 cm hoher Schicht beschickten und einen Teil der Kolben mit Bact. denitr. I plus Bact. coli, einen anderen Teil mit Bact. denitr. II impften, zerstörten die ersteren den Salpeter in normaler Zeit, Bact. denitr. II hingegen war in seiner Gärwirkung so gehemmt, daß der Kolbeninhalt noch nach 4 Wochen maximale Reaktion mit Diphenylamin und H_2SO_4 gab.“ — Wir haben Veranlassung genommen, das Verhalten der Nitrat zerstörenden Bakterien bei reichlichem Luftzutritte nochmals zu prüfen, führten indes die Versuche nicht wie vorstehend beschrieben aus, sondern leiteten einen beständigen starken Luftstrom durch die Nährflüssigkeit.

In Peligot'sche Röhren wurden je 10 ccm Nährlösung (siehe p. 393. 1895) eingegossen, 0,02 g Kaliumnitrit hinzugefügt, die Oeffnungen mittels durchbohrter Gummistopfen geschlossen, in diese je ein mit Watte gefülltes Chlorcalciumrohr eingefügt und das Ganze nun sterilisiert. Danach wurde die Flüssigkeit mit einer Platinöse voll von den Bouillonkulturen des Bact. denitr. I und Bact. coli geimpft, das eine Chlorcalciumrohr mit dem Sauger einer Wasserstrahlpumpe verbunden und beständig Luft durch den Apparat hindurchgesaugt.

Bei einem zweiten Versuche ist statt der bezeichneten Nährlösung eine schwach alkalische Nährbouillon (0,05 Proz. Soda enthaltend) verwendet. Ferner wurden Parallelversuche ohne Durchleitung von Luft gemacht, und befanden sich hierbei die geimpften Nährlösungen in Kolben, die mit einem festen Wattestopfen geschlossen waren. Sämtliche Versuche sind bei 20° C ausgeführt.

Wir erhielten folgende Ergebnisse: In der künstlichen Nährlösung, welche frei von organischen Stickstoffverbindungen war, gelangte weder Bact. denitr. I, noch Bact. coli zur Entwickelung, dagegen sehr gut in allen Flüssigkeiten, welche Nährbouillon, also organische Stickstoffverbindungen enthalten. Nach Verlauf von 2 Tagen war die Bouillon stark getrübt und bei den nur mit Wattestopfen einfach geschlossenen Kolben ist am 4. Tage das Nitrat vollständig verschwunden, so daß durch Diphenylamin keine Reaktion mehr eintrat. Bei beständigem Durchleiten eines Luftstromes war am 2. Tage die Flüssigkeit ebenfalls stark getrübt, jedoch ließen bei der Beendigung des Versuches am 10. Tage noch reichliche Mengen von Nitrat und geringe Mengen von Nitrit sich nachweisen.

Sämtliche vorstehend erwähnten Versuche sind nun auch mit Bact. denitr. II ausgeführt und die im Jahrg. 1895. p. 431 mitgeteilten Resultate bestätigt gefunden.

Es geht somit hieraus hervor, daß die bei Bact. denitr. II durch reichlichen Zutritt atmosphärischer Luft schon früher beobachtete Gärungshemmung auch bei dem Gemisch von Bact. denitr. I und Bact. coli erfolgt, wenn man Luft durch die Nährflüssigkeit hindurchsaugt.

1. Juli 1896.

Ueber die angebliche Umänderung von Tyrothrix tenuis (Duclaux) in ein Milchsäurebakterium.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium der Molkereischule Rütti.]

Von

Dr. J. Wittlin.

Unter dem Titel „Zur Charakterisierung der Duclaux'schen Tyrothrixarten, sowie über die Variabilität derselben und den Zusammenhang der peptonisierenden und Milchsäurebakterien" veröffentlichte Winkler im Centralbl. für Bakt. u. Parasitenk. Bd. I. p. 609 eine Reihe Versuche, die ihrer hohen Wichtigkeit wegen sowohl für die bakteriologische Wissenschaft im allgemeinen, wie auch speciell für die Milch- und Käsebakteriologie, mir einer Nachprüfung wert zu sein schienen.

Vom allgemeinen wissenschaftlichen Standpunkte aus wären die Resultate Winkler's nämlich schon sehr wichtig, denn wenn uns auch bereits eine gewisse Veränderlichkeit in den Funktionen der Bakterien bekannt ist, wie z. B. das Verlieren der Virulenz, das Verlieren der Eigenschaft, Gelatine zu verflüssigen, das Verlieren der Eigenschaft, Gase zu bilden, so wäre doch eine so durchgreifende Funktionsveränderung, wie die von Winkler beobachtete, etwas Neues. Es wäre dies nicht bloß der Verlust einer bestimmten Eigenschaft, sondern ein Hinzutreten ganz neuer Funktionen, also eine völlige Umgestaltung der physiologischen Thätigkeit einer Bakterienart.

Speciell für die Milch- und Käsebakteriologie wären ferner die Resultate von Bedeutung, indem, wie Winkler bemerkt, dadurch manches verständlich werden könnte, was bis jetzt ziemlich unerklärt geblieben ist, wie z. B. das kolossale Ueberhandnehmen der Milchsäurebakterien im Emmenthaler Käse und das im Verhältnis dazu ziemlich seltene Auftreten peptonisierender Arten, von welchen letzteren man a priori annehmen dürfte, daß sie eher sehr zahlreich im Käse sein sollten, da ja der Käsereifungsprozeß auf einer Peptonisierung des Kaseïns beruht. Diese auffallende Thatsache fände nun ihre Aufklärung, wenn, wie Winkler annimmt, die peptonisierenden Bakterienarten sich in Milchsäurebakterien umwandeln sollten.

Bei einer Nachprüfung der Winkler'schen Versuche benutzte ich die mir von Herrn Dr. von Freudenreich im bakteriologischen Laboratorium der Molkereischule Rütti zur Verfügung gestellten Tyrothrix tenuis-Kultur, welche derselbe vom Duclaux'schen Laboratorium seiner Zeit bezogen hatte, und stellte die Versuche auf folgende Art an:

Zunächst stellte ich Plattenkulturen in verschiedenen Verdünnungen her. Erstens wurde eine Platinöse Bouillonkultur in Gelatine geimpft und diese zu einer Platte ausgegossen: Platte I; dann stellte ich noch folgende Verdünnungen her: 1 Tropfen von der Bouillonkultur in 5 ccm sterilem Wasser und davon 2 Platten, die eine mit 1 Tropfen, die andere mit 2 Tropfen (Platte IIa und IIb). Von Verdünnung 2 zwei Tropfen

in 5 ccm Wasser, davon wieder 2 Platten, eine mit 1 Tropfen, die andere mit 2 Tropfen der Verdünnung (Platte IIIa und IIIb); so fortfahrend stellte ich aus 5 Verdünnungen Platten her, die ich später unter dem Mikroskope bei 115facher Vergrößerung untersuchte.

Die nun wachsenden Kolonieen verflüssigten die Gelatine nach ca. 2 Tagen, hatten alle eine regelmäßige, runde Form und bildeten in der Tiefe einen grauen, wolkenartigen Niederschlag am Boden. Die Konturen der Kolonieen waren weißlich-gelb und zeigten eine deutliche Furchung, welche im ganzen Umfange mit strahligen Ausläufern versehen waren. Bei stärkerer Vergrößerung (Zeiß Apochromat 16 mm, Oc. 12) sieht man die oben erwähnten Ausläufer als deutliche Bacillenketten. Die Kolonieen scheinen der von Winkler unter No. 1 beschriebenen Varietät zu entsprechen.

Der einzige Unterschied, den ich zwischen den verschiedenen Kolonieen fand, war der, daß bei den bereits gut entwickelten Kolonieen der erwähnte wolkenartige Niederschlag am Boden zu sehen war, während er bei den noch wenig entwickelten fehlte.

Zur größeren Sicherheit legte ich noch von einer älteren mit solchem Depot und von einer anderen noch keinen Niederschlag enthaltenden Kolonie je eine Stichkultur in Gelatine an, deren Wachstum ich nun genau verfolgte.

Das Wachstum beider Gelatineröhrchen war nun ein vollkommen gleiches, nämlich trichterförmige, längs des Impfstiches allmählich bis zum Boden reichende Verflüssigung.

Zu dieser ersten Versuchsreihe könnte ich noch eine ganze Reihe von Experimenten beifügen, die ich bei anderem Anlasse mit dem Tyrothrix tenuis anstellte, um nämlich die Wirkung des Begießens des Straßenstaubes auf die Bakterienzahl des letzteren zu untersuchen. Zu diesem Zwecke wurden aus dem mit Tyrothrix tenuis infizierten Staube wohl ca. 100 Platten gegossen, bei deren späterer Durchmusterung ich, durch die Winkler'sche Veröffentlichung auf die Eigenschaft der Tyrothrix tenuis-Arten aufmerksam gemacht, dem Wachstume dieser Kolonieen meine ganz besondere Aufmerksamkeit zuwendete.

Obwohl ich nun dabei viele Tausende von Kolonieen vor Augen gehabt habe, fand ich gar keine Verschiedenheiten zwischen denselben, bis auf die Niederschläge, die bei älteren Kolonieen vorhanden waren, bei jüngeren aber anfangs fehlten.

Diese negativen Resultate waren eben der Grund, daß ich die bereits oben beschriebenen weiteren Versuche anstellte. Um jede Täuschung zu vermeiden, ersuchte ich Herrn Dr. v. Freudenreich, meine Platten wie auch die sonstigen Resultate zu kontrollieren, was er auch während der ganzen Dauer der Versuche that und wofür ich ihm meinen besten Dank sage.

Eine weitere Versuchsreihe stellte ich in der Weise an, daß ich zunächst Tyrothrix tenuis eine Zeit lang in Milchzuckerbouillon züchtete, um das Hervortreten seiner Eigenschaften als Milchsäurebildner zu begünstigen, da nämlich nach Winkler die Gegenwart von Milchzucker die Umwandlung der peptonisierenden Varietäten in gärungsfähige erleichtern soll.

Diese Kultur wurde jeweilen nach 24 Stunden in frische Milchzuckerbouillon umgeimpft und nach 12 Umzüchtungen wiederum Platten angelegt, und zwar dieses Mal mit Zusatz von Milchzucker zur Gelatine. Ferner wurden Stichkulturen in hohe Milchzuckergelatineröhren sowie in Milchzuckeragar vorgenommen, um eine etwaige Gasbildung beobachten zu können. Eine solche konnte indessen weder bei dem in Milchzuckergelatine bei 20 °, noch bei dem in Milchzuckeragar bei 37 ° gehaltenen Tyrothrix tenuis konstatiert werden. Auch auf den Milchzuckergelatineplatten waren zwischen den einzelnen Kolonieen absolut keine Unterschiede zu bemerken. Außerdem wurden anaërobe Kulturen in Milch angelegt, um festzustellen, ob in denselben bei Luftabschluß Gärungserscheinungen sich zeigen würden. Dieses war jedoch nicht der Fall.

Richtig ist nur, daß die Peptonisierung resp. Verflüssigung in Zuckergelatine viel langsamer vorschreitet, was indessen eine schon längst bekannte Thatsache ist.

Auf Grund dieser Resultate hielt ich es für unnötig, da die von Winkler beobachteten Thatsachen besonders bei Tyrothrix tenuis hervorgetreten waren, meine Versuche auf die übrigen Tyrothrixvarietäten auszudehnen, und glaube ich mich zu dem Schlusse berechtigt, daß eine Umwandlung von Tyrothrix tenuis in ein Milchsäurebakterium nicht stattfindet.

Wie Winkler zu seinen Resultaten gekommen ist, kann ich mir freilich nicht erklären, es wäre denn, daß die von ihm beobachteten Thatsachen in einer zufälligen Verunreinigung der Originalkultur, von der seine Versuche ausgingen, ihren Grund hätten.

Die Möglichkeit einer solchen Verunreinigung ist schon deshalb nicht ausgeschlossen, weil zur Zeit, als Duclaux seine Tyrothrixkulturen darstellte, das Gelatineplattenverfahren noch nicht bekannt war und die Isolierung vermittelst Bouillonkulturen geschehen mußte.

Der Verdacht einer ursprünglichen Verunreinigung findet auch in dem Umstande eine Stütze, daß bei den Versuchen Winkler's schon in der ersten Aussaat der Originalkultur auf Milchzuckergelatineplatten eine größere Zahl (auf gewöhnlicher Gelatine $^{1}/_{8}$) der Kolonieen zu der stark gärenden Flüssigkeit gehörten (No. 6, loc. cit. p. 617). Oder man müßte annehmen, daß die von Winkler behauptete Eigenschaft des Tyrothrix tenuis, sich in ein Milchsäurebakterium umzuwandeln, sich sehr bald verliere, und daß ich deswegen ähnliche Resultate, wie die von Winkler, nicht erhielt, weil meine Tyrothrix tenuis-Kultur im Laufe der Zeit mehrmals auf Agar umgezüchtet worden war und ihre peptonisierenden Eigenschaften möglicherweise dermaßen fixiert habe, daß eine Umwandlung nicht mehr möglich gewesen sei. Dieses ist indessen kaum wahrscheinlich, denn dieser Verlust der Variabilität hätte sich wohl bereits in den Bouillonkulturen Duclaux' eingestellt, da letztere jedenfalls auch mehrere Umzüchtungen in den Händen Duclaux' erfahren haben werden. Ueberdies müßte das von mir vorgenommene mehrmalige Umzüchten in Milchzuckerbouillon die Rückkehr der gärenden Eigenschaften veranlaßt haben, wenn eine solche nur überhaupt möglich gewesen wäre.

Bern, 28. Juni 1896.

Bakterien-Gesellschaften.

Von

M. Jegunow, Assistent

in

Nowo-Alexandria.

2. Artikel.

Mit 2 Tafeln.

(Schluß.)

Die gewölbähnliche Basis der Fontaine ist sehr deutlich auf Photogr. 1 und besonders auf Photogr. 2 (Taf. IV) in der Gegend a zu sehen; fügen wir hierzu noch eine „Platte mit andauernder erhöhter Chemiotaxisspannung“ hinzu, welche aus nach oben konvexen Stückchen und Streifen besteht, so erhalten wir ein genügend deutliches Bild, aber eine solche Fontaine — mit einer konvexen Basis — war von mir nicht als Typus angenommen. Die Ursachen waren folgende:

1) diese Form ist keine beständige, sondern eine zeitweilige und nicht andauernde,

2) als eine andauernde und beständigere Form erwies sich eine andere, in welche sich sehr bald die Fontainen mit einer konvexen Basis verwandelten, nämlich eine Fontaine mit einer glatten Basis, welche von mir auch als typische angenommen ist, und endlich

3) veränderte meine Annäherung sehr oft die Form der Basis in eine konvexe [1]), so daß man für mikroskopische Analyse außer dem gewöhnlich gebräuchlichen Pappschutze noch ein vielfach zusammengelegtes schwarzes Zeug zum Schutze des Mikroskopes gebrauchen und die Hand, welche die Kremolierschraube in Bewegung setzte, in ein Schnupftuch einhüllen mußte [2]).

Licht und Wärme (meine Anwesenheit) zerstörten oft die Fontainen, sie verschwanden langsam und allmählich.

In der weiteren Entwickelung der Kulturen verändert sich auch allmählich die ebene Form der Fontainenbasis (sie wird trichterförmig) und nähert sich mehr und mehr der Form nach dem Trichter der „Fontainenplatte“, welcher in meinem 1. Artikel im Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. II. 1896. No. 1 beschrieben ist. Diese Veränderung hängt schon von der Veränderung des Bakterienbestandes ab; die β-Organismen haben mehr und mehr über die großen α-Organismen überhand genommen.

Typische Fontainen der neuen Platte.

Sie wurden in den breiten Gefäßen unter den oben angeführten Maßregeln beobachtet; Vergrößerungen von 6—80 mal wurden angewandt.

---

1) Diese Erscheinung ist bis dato für mich noch unklar.

2) Alles dieses wurde getroffen, ungeachtet dessen, dafs mein horizontales Mikroskop aus einem alten, langen Mikroskop verfertigt worden ist.

Die Fontainen des Photogr. 3 (Taf. IV) haben gewöhnliche Basen. Fig. 4 (Taf. III) stellt eine solche Fontaine schematisch dar: von der ganzen dichten konvexen Oberfläche sondern sich Organismen in ziemlich undichter Masse ab; sie nähern sich allmählich, indem sie sozusagen eine Düte bilden und ein wenig tiefer (oder weiter) wieder auseinandergehen. Auf diese Art erhält man die Figur einer Düte, aber wenn die Organismen nach unten wieder auseinandergehen, so entsteht die Figur zweier Kegel, welche sich mit den Spitzen berühren.

Photogr. 4 (Taf. IV) stellt eine Platte mit solchen Fontainen dar. Die Basen der Fontaine sind hier nicht mehr konvex, sondern eben, oder, richtiger gesagt, die Basis stellt eine flache Vertiefung dar. Wenn man Photogr. 4 (Taf. IV) aufmerksamer betrachtet, so kann man deutlich bemerken, daß die Basis der Fontaine aus einem Ring besteht, von welchem Organismen nach unten hin ausgehen, indem sie einen Pseudotrichter der Fontaine bilden (ein richtiger Trichter — eine Vertiefung der Platte selbst). Dieser Pseudotrichter besteht aus nicht besonders dicht gelegenen großen α-Organismen und hatte keine scharf ausgeprägten Ränder, welche sehr charakteristisch für die Trichter der „Fontainenplatte" sind; im Centrum des Ringes, in der Fläche der Platte, befindet sich noch eine dichte Organismenansammlung (siehe auch Photogr. 1, Taf. IV). Außerdem kann man bei aufmerksamer Beobachtung sehen, daß die ebene centrale Ansammlung ein wenig niedriger als die Platte selbst liegt, weil der Teil der Basis, welcher zwischen dieser und der äußeren ringförmigen Ansammlung gelegen ist, ein wenig nach unten geneigt ist. Dieses stellt die Fig. 5 (Taf. III) schematisch dar. Jedoch übersteigen die Höhen dieser Erhöhungen und Erniedrigungen nicht 0,06—0,08 mm, sind also sehr klein und schwer in den breiten Gefäßen auszumessen.

In der soeben beschriebenen Fontaine kann die centrale Ansammlung fehlen, dann ist die Basis eben und besteht aus einem Ringe.

Dieser Ring und die von ihm sich erhebende Fontaine besteht aus dichten Ansammlungen der α-Organismen. Diese Organismen sind auch in der ganzen Platte verteilt; dank ihrer Größe und den winzigen β-Organismen kann man sehr leicht alle Erscheinungen, welche in der Platte vor sich gehen, beobachten.

Die Bewegung der Organismen in den Fontainen ist eher mit einem Flimmern oder Zittern zu vergleichen, da sie eine sehr langsame ist. Das Ausströmen vergrößert sich periodisch durch ein einfaches Vermehren der sich ausscheidenden Organismen; oft ist ein Kern im Begriff, sich zu bilden, übrigens ist derselbe mit keinen scharfen Umrissen versehen.

Die Dimensionen der Bildungen sind folgende: Durchmesser der Fontainenbasis —0,9—1,6 mm, ihre Höhe (konvexe oder konkave) nicht mehr als 0,06—0,08 mm; Länge der Fontaine 1,2—2,0 mm. Die Geschwindigkeit des Kernes ist sehr gering: 0,004—0,007 mm pro 1 Sec.

Die Erscheinungen mit dem Ringe und centralen Ansammlungen sind am kompliziertesten und tragen immer einen periodischen und

kometenähnlichen Charakter. Solche Fontainen kann man auf den Photogrammen 1 (sehr deutlich Fontaine No. 6 und 7) und 4 sehen. Wenn wir von der Basis anfangen, welche auf diesen Photogrammen dargestellt ist, so wird die Reihenfolge der Erscheinungen folgende sein:

1. Phase. Von der dichten centralen Ansammlung, welche ein wenig nach unten durchhängt (nicht mehr als 0,06 mm), weswegen deren Kontur mit den Umrissen der vorderen [1]) Seite des Ringes verschmilzt, sondern sich viele Organismen ab, die Ansammlung scheidet, so zu sagen, dieselben aus; die ausgeschiedenen Organismen konzentrieren sich im Centrum ihres Haufens zu einem undichten Kern, welcher sich auch nach unten bewegt. Während dieser Zeit verstärkt sich die Organismenabsonderung sowohl von dem Ringe, als auch von der ganzen Basis der Fontaine (siehe Fig. 6 *a*, *b*, *c*, Taf. III).

2. Phase. Der Kern fährt fort, sich nach unten zu bewegen, indem er die kegelähnliche Form der Fontaine vollendet und endlich verschwimmt er. Zu dieser Zeit erreicht die Fontaine ihre maximale Länge (Fig. 6 *d* und *e*).

Zur selbigen Zeit gehen in der Basis der Fontaine folgende Veränderungen vor sich: Die centrale Ansammlung wird zu einer Kernbildung verbraucht, entweder 1) vollständig — dann wird das Centrum der Ansammlung undicht (es gleicht der Dicke nach der übrigen Platte) und es bleibt nur noch der Ring übrig — (Fig. 6 *e*, Fig. 5 *a*) oder 2) die Ansammlung wird noch weiter zur Kernbildung ausgenutzt — dann fängt der centrale Teil der Basis, welche ein wenig nach unten durchhängt, wegen ihrer Massenverminderung an, sich nach oben emporzuheben; die Hebung kann man sogleich bemerken, weil der centrale Teil der Ansammlung, welche nach dem Ausscheiden die Form eines unbedeutenden Kegels hat und mit der vorderen Seite des Ringes verschmolzen ist, anfängt, sich von der Kante des Ringes abzusondern und sich immer mehr und mehr dem Centrum des Ringes nähert. Dann erhält man die Figur eines Mondberges (bitte mich für die astronomische Vergleichung zu entschuldigen), d. h. im Centrum einer Fläche, welche von einem Ring umgeben ist, erhebt sich ein sehr flacher Kegel (Fig. 6 *d* und *g*).

Darauf verschwindet die Durchhängung, d. h. es verschwindet der Kegel und an dieser Stelle bleibt nur eine nicht durchhängende Ansammlung übrig.

3. Phase. Bald bildet sich wieder eine centrale Ansammlung aus den zurückkehrenden Organismen, sowie auch aus neuen Organismen der Platte selbst. Mit der Vergrößerung der Ansammlung vergrößert sich auch das Durchhängen nach unten, sie nähert sich immer mehr dem vorderen Rande des Ringes und endlich verschmilzt sie mit dem Ringe, indem sie einen dichten Bogen bildet. In der Mitte dieses Bogens ist ein sehr dichtes Centrum — eine Ansammlung — im Begriffe sich zu bilden. Die Ausscheidungen dieser Fontaine waren jetzt sehr undicht und hörten fast gänzlich auf, da dieselben sehr arm an Organismen sind (Fig. 6, *hi*).

---

1) Unter dem Mikroskope erscheint diese Seite des Ringes als die hintere.

4. Phase. Von der ganzen Oberfläche des Bogens finden Ausscheidungen statt (Fig. 6 *a*). Aus dem dichten Centrum sind die Ausscheidungen viel dichter, hier bildet sich eben der Kern, weil hier sich die ausgeschiedenen Massen konzentrieren (Fig. 6 *b*).

Auf diese Weise sind wir wieder zur 1. Phase angelangt; wir haben auch eine schwankende Bewegung (nach oben und nach unten) des Centrums wahrgenommen. Diese Periodicität hält zuweilen recht lange an; gewöhnlich hört sie aber mit der Zerstörung der Fontaine oder mit ihrer Umänderung in eine der obengenannten Fontainen, welche nicht centrale Ansammlungen bilden, auf. Zuweilen stimmen die Phasen verschiedener Fontainen überein, zuweilen nicht. Die Dauer einer vollen Periode ist bei verschiedenen Fontainen, sogar bei nebeneinanderliegenden, nicht gleich. Die von mir beobachtete Periode währte 12—14 Minuten. Ich habe einige Gründe, zu denken, daß die soeben beschriebenen komplizierten Erscheinungen von der Kombination der Eigenschaften zweier verschiedener Organismen α und β abhängen. Daher diese Kompliziertheit der Erscheinungen. Soweit man sich auf den äußeren Schein der Ansammlungen bei einer Vergrößerung von 30 und 50 mal verlassen kann, ist auch meine folgende Schlußfolgerung begründet: Der Ring besteht unzweifelbar aus sehr großen Organismen und bildet keine Durchhängung oder Vertiefung; was aber die centrale Ansammlung anbetrifft, so besteht dieselbe, nach ihrer größeren Feinkörnigkeit zu urteilen, größtenteils aus β-Organismen — sie hängt durch. — Außerdem bewies die Analyse der veränderten Kultur — von der typischen neuen Platte bis zur „Fontainenplatte“ — auch eine Veränderung des Bakterienbestandes, ein allmähliches Verschwinden der Organismen α und das Vorherrschen von β. Die Ansammlung von Organismen α ruft eine, die von β keine Durchhängung hervor. Daher ist auch die Erscheinung der Centrumschwankungen der Fontainenbasis durch aufeinander folgende Hebungen bei der Bildung der centralen Ansammlung ersichtlich, diese Erscheinung wird von β-Organismen hervorgerufen. Die Kegelbildung (Fig. 6, *d*, *g*) wird noch klarer und deutlicher, wenn ich hinzufüge, daß die Erscheinung der Bakterienschwarm-Abteilung oder ihre Ausscheidung aus der Platte zuweilen sehr an die Teilung der tropfbaren Stoffe erinnert, aber eben nur erinnert. Der Gebrauch starker Vergrößerungen, bei welchen jeder Organismus zu sehen ist (wenn auch nur als ein Punkt), zeigt uns vollständig deutlich die volle Bewegungsfreiheit der Individuen und daß diese Aehnlichkeit nur eine Imitation ist. Diese Imitation ist nur die Folge der von mir in diesem Artikel erwähnten und auf lebende Geschöpfe anwendbaren Ursache: zwei verschiedene Ursachen, deren Thätigkeit durch eine und dieselbe Art und Weise im Raume verbreitet wird, können identische Erscheinungen hervorrufen. Die Konfigurationen der Ansammlungen charakterisieren nur die Verbreitung der aktiven Kraft (Radius der Wirkung, Geschwindigkeit in verschiedenen Richtungen).

Das viele Material, welches von mir gesammelt ist, erschwert den weiteren Gang meiner Arbeit, daher will ich, ehe ich zur Chemie der Prozesse und zur Morphologie übergehe, bei dem verweilen, was

von mir schon erzielt ist. Die Mechanik der von mir entdeckten Bakteriengesellschaften wird immer klarer. Teilweise haben glückliche Zufälle, teilweise meine Ausdauer dabei geholfen. In der nächsten Zeit werde ich eine Reihe von Abhandlungen veröffentlichen, und zwar: 1) Figuren- oder Musterplatten; 2) die Erscheinungen des Gleitens längs einer geneigten Platte, Bau und physikalische Eigenschaften der Platte; 3) Wirkung äußerer Faktoren auf die Platte (diese Abteilung ergab unerwartete Resultate); 4) Aufbau, Hebung und Senkung der Platte und 5) Kultur mit Indigo-Karmin.

Nowo-Alexandria bei Warschau, am 15. April 1896.

Erklärung der Tafeln.

Tafel III.

(Alle Figuren sind, außer 1 und 2, ungefähr 10 mal vergrößert.)

Fig. 1 u. 2. Neue Bakterienplatte. Zwei aufeinanderfolgende Stadien der Verwandlungen der Platte (nach einem Zwischenraume von 20 Minuten). Eine scheinbare Erhöhung der Plattenränder ist die Folge der Strahlenbrechung des Wassers. Die Platte ist von der Seite und ein wenig von oben zu sehen, um den Plan der Platte zu zeigen.

Fig. 3. Fontaine der „Fontainenplatte"; *a* = Durchschnitt und Schema der Massenbewegung der Organismen, *b* — Ansicht der Fontaine von der Seite und ein wenig von oben; die vordere Seite des Trichters erscheint sehr dicht, weil sie näher zur Sehfläche gelegen ist, die hintere, welche mehr perpendikulär zur Sehfläche ist, erscheint uns sehr undicht.

Fig. 4. Fontaine der neuen Platte mit einer eigenartigen Basis von der Seite.

Fig. 5. Fontainen der neuen Platte. Die Basis der Fontaine besteht a) nur aus einem Ringe, b) aus einem Ringe und einer centralen Ansammlung, c) aus keinem Ring, aber aus einer centralen Ansammlung; d) Schema des Durchschnittes der Fontaine *b*. Der centrale Teil ist ein wenig durchhängend. Aehnliche Fontaine siehe Photogr. 1 (Fontaine 6 u. 7) und Photogr. 4 (Taf. IV).

Fig. 6. Aufeinanderfolgende Phasen in einer Fontaine mit einem Ringe und centraler Ansammlung [1]. Ausführliche Beschreibung im Texte.

Fig. 7. Verschmelzung der Ringe und ihre Verbreitung auf der Platte (bei einer 20-fachen Vergrößerung). Hierbei vergrößern sich die Durchmesser der Ringe und die Platte wird dichter. Nur die α-Organismen sind angegeben. Genaue Dimensionen der Bakterienbildungen sind nicht ersichtlich.

Fig. 8. Verwandlung der Fontaine der neuen Platte in Fontaine gewöhnlichen Typus. Allmähliche Vergrößerung der Trichtertiefe und Verschmelzung der Ränder des Trichters mit der Organismenausscheidungsfläche.

Tafel IV.

Um die Vergrößerungen genauer zu bestimmen, sind die Durchmesser (*D*) der Gefäße in mm ausgeführt. Ich habe mir keine photographischen Manipulationen, wie: Beschreibung, Verstärkung der Negative etc. erlaubt. Was man bei der Aufnahme erhielt, ist hier angegeben.

Photogr. 1 u. 2. Aufeinander folgende Stadien in der Platte in einem Zwischenraume von 20 Minuten. Vergrößerung $2^1/_2$. D. = 32 mm.

Photogr. 3. Dasselbe, 2 Stunden später als No. 1. Die Fontainen-Basen sind konvex.

Photogr. 4. Beschreibung im Text. Die kleinen Streifen und Körnchen sind Risse und Absätze an der Gefäßwand. Vergrößerung $4^4/_5$.

Photogr. 5. Platte mit andauernd erhöhter Chemiotaxisspannung. Vergrößerung $1^4/_5$. D. = 18 mm.

Photogr. 6. „Fontainenplatte". Kultur in schmalem Gefäße (1 mm) vom 12. Febr. 1895. Volum des Gefäßes weniger als 1 ccm. Vergrößerung $2^3/_5$.

Photogr. 7. Fontainenplatte im breiten Gefäße. Vergrößerung $2^3/_5$. D. = 28 mm.

1) Ob Veränderungen im Durchmesser des Ringes vorkamen, konnte man durch direktes Ausmessen nicht wahrnehmen.

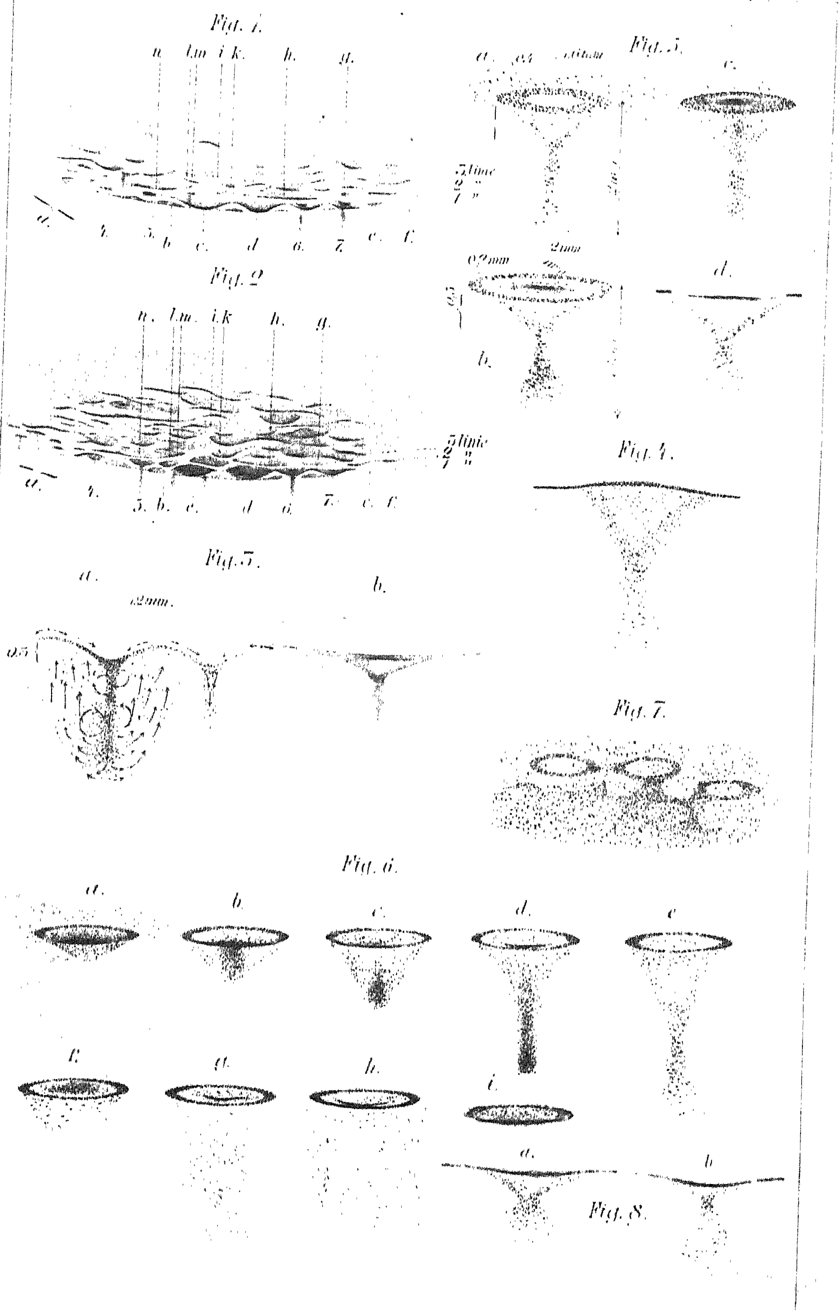

Fig. 1.
Fig. 2.
Fig. 3.
Fig. 4.
Fig. 5.
Fig. 6.
Fig. 7.
Fig. 8.
5 linie
2 "
1 "
0,2 mm
2 mm
0,5

Fig 1.

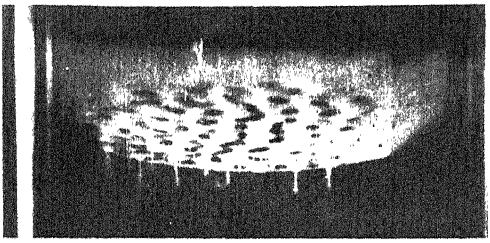


Fig. 2.

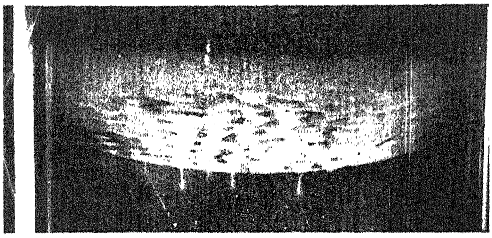
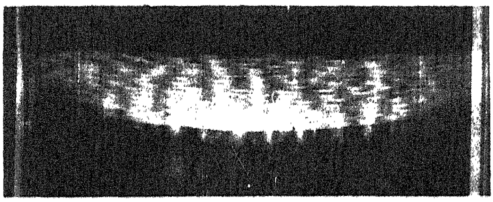


Fig. 3.



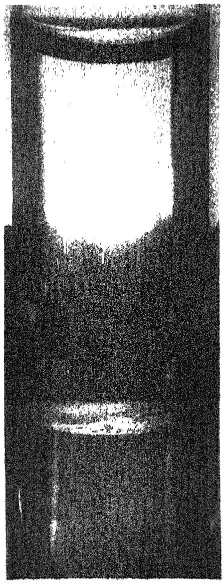


Fig. 5.

Fig. 4.



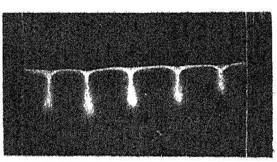


Fig 6.

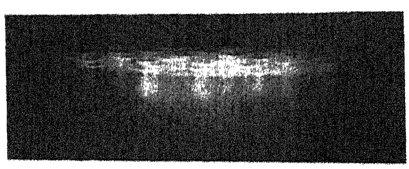


Fig. 7.

Verlag von Gustav Fischer, Jena.

Lichtdruck v. J. B. Obernetter, München.

Zusammenfassende Uebersichten.

Die Methoden, welche bei der Reinzüchtung von Hefe und ähnlichen Organismen durch Einzellkultur auf festen Nährböden zur Feststellung der Lage der ausgewählten Zellen in den Kulturen zur Anwendung kommen.

Von

Dr. H. Will

in

München.

Mit 1 Figur.

Bei der Darstellung absoluter Reinkulturen muß man bekanntlich von einem einzigen Individuum, einer einzeln Zelle der Art ausgehen, eine Forderung, welcher man bei der Reinkultur von Bakterien wegen der Kleinheit der Objekte und wegen anderer Gründe in der Regel nicht gerecht werden kann. Es giebt ja allerdings Bakterienarten, welche bei der relativ bedeutenden Größe auch der letzten Entwickelungsglieder das Ausgehen von einem einzelnen Individuum ermöglichen würden. Die Bakteriologen schlagen jedoch auch in diesem Falle meist ihren eigenen Weg ein und behalten die übliche Methode der Reinkultur bei.

Anders ist es bei der Hefe und ähnlichen Organismen. Wenngleich auch hier die Größenunterschiede der Zellen bei den verschiedenen Arten in einzelnen Fällen — beispielsweise giebt es unter den echten, sporenbildenden Hefen sehr kleine Formen von Saccharomyces anomalus, außerdem kommen hier die oft sehr kleinen Zellen der unter dem Gattungsnamen Torula zusammengefaßten Arten in Betracht — sehr bedeutende sein können, so erscheint es doch, wenigstens nach den bisherigen sehr zahlreichen Erfahrungen, selbst bei den kleinsten Arten möglich, die einzelnen Zellen auch bei der verhältnismäßig schwachen Vergrößerung, zu deren Anwendung man beim Absuchen der Kulturen gezwungen ist, zu erkennen. Allerdings bieten die neuen stärkeren Objektive von Zeiß mit sehr großen Arbeitsabständen in Verbindung mit den Kompensationsokularen ein Hilfsmittel dar, durch welches die Kulturen selbst mit sehr starken Vergrößerungen — bis über 700facher — abgesucht und selbst die kleinsten Zellen deutlich erkannt und von ähnlich geformten, in der Gelatine eingeschlossenen Körpern unterschieden werden können.

In der Regel kann man bei der Reinkultur von Hefe von der Anwendung flüssiger Nährböden absehen und feste anwenden, solange nur Sorge dafür getragen wird, daß dieselben in geeigneter Weise zusammengesetzt sind, so daß die Tochterzellen den ausgesäten Mutterzellen gleichen und nicht eine andere Entwickelungsform, eine

andere Generation der Hefe erzeugt wird. Andererseits dürfen die Kulturen auch nicht zu alt werden, da neben der Schwächung der ursprünglich entwickelten Zellen sich ebenfalls ein Uebergang an eine andere Entwickelungsform vollziehen kann.

Bei der Reinzüchtung von Hefe und ähnlichen Organismen handelt es sich also in erster Linie darum, unsere Plattenkulturen — die auf die Böttcher'sche feuchte Kammer aufgelegten großen Deckgläser mit der die Hefe enthaltenden Gelatineschicht stellen ja nur Plattenkulturen en miniature dar — nach gut isolierten Zellen zu durchsuchen. Die Lage dieser Zellen in der Plattenkultur muß dann so genau festgestellt werden, daß dieselben unter dem Mikroskop jederzeit leicht und mit absoluter Sicherheit wieder aufgefunden werden können, um durch die fortwährende Kontrolle während der Entwickelung der Zellen zu makroskopisch sichtbaren Kolonieen jeden Zweifel darüber auszuschließen, daß diese Kolonieen auch thatsächlich nur aus den fixierten Mutterzellen hervorgegangen sind.

Hierzu kommt noch, daß die herangewachsenen Kolonieen zum Zweck des Abimpfens auch ohne Mikroskop leicht aufgefunden werden können.

Eine weitere Forderung ist, daß die Reinkultur nach der Abimpfung leicht dahin kontrolliert werden kann, ob letztere auch gelungen ist, ob keine der benachbarten Kolonieen berührt wurde u. s. f.

Welche Hilfsmittel stehen nun uns Hefezüchtern zur Verfügung, um diesen Postulaten in der exaktesten Weise gerecht zu werden?

Von der Anwendung des beweglichen Objekttisches sowie der noch einfacheren Markierung der jeweiligen Lage der feuchten Kammer auf dem Objekttisch, wie sie ursprünglich von Hansen[1]) benutzt wurde und später von Strasburger[2]) und Anderen vorgeschlagen wurde oder eines untergelegten weißen Kartons, wie Aderhold[3]) angegeben hat, sowie ähnlicher Einrichtungen — untergelegte geteilte Glasplatte u. s. f. — wie sie von anderer Seite vorgeschlagen wurden, ohne weitere Hilfsmittel ist abzusehen. Diese Arbeitsverfahren erscheinen, obgleich sie ja auch zum Ziele führen, gegenüber den anderen, viel sichereren, bei welchen die Markierung direkt auf der Platte erfolgt, nur als Notbehelfe. Jedenfalls setzen dieselben nur eine sehr geringe Einsaat von Hefezellen in der Gelatine voraus, um die Gefahr der Verwechslung und der hieraus entstehenden Unsicherheit auszuschließen. Durch diese Umstände wird aber das Absuchen der Kultur eine äußerst mühsame Arbeit. Außerdem können diese Methoden uns so lange Dienste leisten, als sich die feuchte Kammer in völlig intaktem Zustand befindet. Sobald das Deckglas nur im geringsten verschoben wird, sind selbstverständlich alle Markierungen, welche nur auf dem Objekttisch in der einen oder der anderen Weise gemacht wurden, unbrauchbar. Bei der Anwendung runder Deck-

1) Méthodes pour obtenir des cultures pures etc. (Medd. fr. Carlsberg Laborat. Bd. II. Résumé. p. 99.)

2) 50. Naturforscher-Versammlung, Straßburg 1895. (Bot. Centralbl. Bd. XXIV. p. 157.)

3) Untersuchungen über reine Hefen. (Landw. Jahrb. Bd. XXIII. 1894. p. 594.)

gläser von dem Durchmesser des Ringes der feuchten Kammer ist allerdings die Gefahr einer Verschiebung bedeutend vermindert. Hansen[1]) befestigte das Deckglas auch noch an mehreren Stellen mit Siegellack. Wird das Deckglas zum Zweck des Abimpfens von dem Ring der feuchten Kammer abgehoben, dann hört natürlich jede weitere Kontrolle auf.

Es kann also nur eine Arbeitsweise allen Anforderungen genügen, welche entweder nach einer bestimmten Art der Anlegung der Kulturen oder bei dem gewöhnlichen Verfahren, durch Anbringen von Merkmalen auf der Platte jederzeit ein sicheres und rasches Auffinden bestimmter Zellen möglich machen. In die erste Kategorie gehört die Methode der Tröpfchenkultur nach Lindner[2]), speciell in der von Schönfeld[3]) angegebenen Modifikation, sowie bis zu einem gewissen Grade auch die von van Laer angegebene, welche sich aber der zweiten nähert.

In einer zweiten Kategorie können die direkte Markierung der ausgewählten Zellen unter dem Mikroskop entweder mit der Hand oder unter Anwendung des Objektmarkierers von J. Klönne und G. Müller in Berlin sowie der geteilten Deckgläser unter gleichzeitiger Anwendung einer Okularteilung zusammengefaßt werden.

Von einer Beschreibung der Tröpfchenkultur kann hier um so mehr abgesehen werden, als das Wesentlichste derselben von Schönfeld in diesem Centralblatt. Bd. I. p. 180 in dem Aufsatz: Uebersicht über die Methoden zur Reinzüchtung von Mikroorganismen angegeben wurde.

Die auf das Deckglas mit einer Feder in Form kleiner Striche aufgetragenen Tröpfchen sind in nicht zu engen, möglichst regelmäßigen Abständen voneinander in mehreren Reihen angeordnet. Jedes einzelne Tröpfchen ist infolgedessen durch zwei Zahlen genau gekennzeichnet. Wir erhalten für die Bestimmung der Lage einer Zelle in der Kultur einen einfachen Ausdruck, beispielsweise I_2, II_5 u. s. f. Die erste Zahl giebt die Reihe an, der Exponent, der wievielte Tropfen der Reihe eine einzige Zelle, die wir zur Reinzucht ausgewählt haben, enthält. Um Verwechslungen der Reihen vorzubeugen, wird die als erste angenommene auf der Außenseite des Deckglases in irgendwelcher Weise, durch einen Tropfen schwarzen Lackes oder durch einen kleinen Punkt mit Tinte u. s. f. gekennzeichnet.

Der Gefahr, welche der Tröpfchenkultur durch das mögliche Zusammenfließen der Tröpfchen anhaftet, kann durch Zusatz von Nährgelatine, wie dies Schönfeld bei der Untersuchung von Geläger, Satzhefe etc. gethan hat, begegnet werden. Hierbei tritt allerdings eine sehr wesentliche Modifikation der Tröpfchenkultur in der Beschaffenheit des Nährsubstrates ein; die Entwickelung der Hefe in einer Flüssigkeit wurde unter anderem als ein Hauptvorteil der Methode angegeben. Bei Anwendung einer normalen Bierwürze-

---

1) l. c. p. 99.

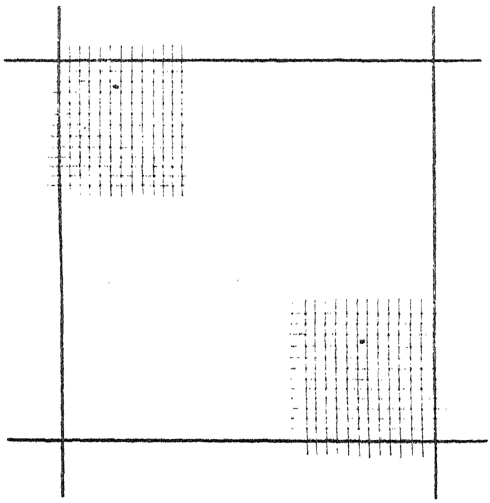
2) Wochenschr. f. Brauerei. 1893. No. 51. p. 1354. 1894. No. 23. p. 697. 1896. No. 4. p. 80.)

3) Ebenda. 1895. No. 24. p. 548. 1895. No. 21. p. 480. Anmerkung.

gelatine fällt dies jedoch, meiner Meinung nach, gegenüber der Sicherheit, welche die Anwendung fester Nährböden bietet, nicht so sehr ins Gewicht.

Bei Verwendung von 10-proz. Bierwürzegelatine, welche in der üblichen Weise mit Hefe gemischt war, zu Tröpfenkulturen habe ich jederzeit gute Resultate erzielt. An Stelle des festen Objektträgers ziehe ich jedoch die Böttcher'sche Kammer vor, nachdem hier die Kulturen nicht so leicht austrocknen, ein Nachteil, der sich auch sehr leicht beim Abimpfen einer größeren Anzahl von Kolonieen von der gleichen Kultur infolge der Kleinheit der Tröpfchen geltend macht.

Zur Erzielung einer größeren Anzahl von isolierten Zellen ist jedenfalls eine größere Anzahl von Kulturen, als dies bei den anderen Methoden, bei welchen ein großer Tropfen Gelatine auf dem Deckglas ausgebreitet wird, anzulegen. Dieser Umstand ist jedoch kaum



von Bedeutung, nachdem das Auftragen der Gelatinetröpfchen auf eine größere Anzahl von Deckgläsern nur sehr kurze Zeit in Anspruch nimmt.

Die Markierung der einzelnen notierten Tröpfchen auf dem Deckglas bei dem erstmaligen Absuchen der Kultur ist noch viel weniger nötig, als die Markierung der in denselben entwickelten Hefekolonieen vor dem Abimpfen. Zum raschen Auffinden der letzteren wird derselbe aber jedenfalls beitragen.

Die Tröpfchenkultur ist bei einiger Uebung leicht und bequem zu handhaben und bietet bei Anwendung von Nährgelatine die gleiche Sicherheit wie die übrigen Kulturmethoden mit festen Nährböden.

Bei der bis jetzt wohl allgemein angewendeten Reinkulturenmethode, bei welcher die Gelatine nicht in einzelne Tropfen zerlegt ist, sondern sich in einer zusammenhängenden, möglichst gleichmäßigen Schicht auf dem Deckglas befindet, werden die beim Ab-

suchen mit einem stärkeren System — etwa Zeiß Obj. D. Ok. 2 — aufgefundenen isolierten Zellen direkt unter dem Mikroskop auf dem Deckglas markiert. Es kann dies in der Weise geschehen, daß die feuchte Kammer auf dem Objekttisch festgeklemmt wird, nachdem die Zelle in die Mitte des Gesichtsfeldes eingestellt ist und unter Anwendung eines Objektives mit großem Arbeitsabstand — beispielsweise der Kombination Zeiß Obj. AA. Ok. 4, welche die Zellen noch eben gut erkennen läßt, während der Abstand des Objektives vom Deckglas etwa 1 cm beträgt — eine oder zwei Marken in Form von Punkten oder Strichen mittelst einer Feder und nicht zu dünnflüssiger Tinte oder mittelst eines dünnen spitzen Holzstäbchens oder einer Präpariernadel, deren Spitze in Asphaltlack oder weiße Farbe getaucht ist, so angebracht werden, daß sie die Zelle zwischen sich einschließen. Die Markierung erfordert nach dem Festklemmen der feuchten Kammer nur eine ruhige, sichere Hand, immerhin bleibt es eine sehr mühsame Arbeit.

Als Stützpunkt für die Nadel kann mit Vorteil das von W. Prausnitz[1]) für die Abimpfung von Bakterienkolonieen von der Koch'schen Platte angegebene fahnenförmig ausgeschnittene Platinblech benutzt werden, daß mittelst eines Ringes am Objektiv befestigt ist.

Bei der Kontrolle bis zur Abimpfung und bei letzterer selbst bieten sich keine Schwierigkeiten; die gewählten Zellen sind leicht und sicher aufzufinden. Die Kontrolle nach der Abimpfung erfordert jedoch die Anfertigung einer Skizze, in welcher die gegenseitige Lage der markierten Zellen eingetragen ist. Jede der abgeimpften Kolonieen wird auf dieser Skizze mit einer dem Wurzelkölbchen, in welches die Kolonie übertragen wurde, korrespondierenden Nummer versehen.

Es ist von Vorteil, bei dieser wie bei der folgenden Art der Markierung für die sichere Orientierung noch verschiedene andere, zufällig sich bietende Hilfsmittel beizuziehen, so beispielsweise in der Gelatine eingeschlossene Krystalle von oxalsaurem Kalk oder andere Körper, welche in der Nähe der isolierten Zellen liegen, und welche, ebenfalls in der Skizze eingezeichnet, vortreffliche Anhaltspunkte abgeben.

Anstatt durch die Markierung mit der Hand kann die Lage der isolierten Zellen in der Kultur mittelst des Objektmarkierers von Klönne und Müller in Berlin bezeichnet werden. Dieses kleine, im allgemeinen recht brauchbare, aber eine geschickte Hand erfordernde Instrumentchen besitzt bekanntlich die Form eines Objektives, das an Stelle der Frontlinse mit einer durch eine scharfe Kante begrenzten Oeffnung versehen ist. Der Durchmesser dieser Oeffnung wird, wie sich mir aus einem Vergleich mit verschiedenen Größen ergeben hat[2]), vorteilhaft 1 mm nicht überschreiten.

---

1) Kleinere Mitteilungen zur bakteriologischen Technik. (Münchener med. Wochenschr. 1890. No. 48.)

2) Vergl. hierzu auch die Bemerkungen von Emil Chr. Hansen, Méthodes pour obtenir des cultures pures de Saccharomyces etc. (Medd. fr. Carlsberg Laborat. Bd. II. Résumé. p. 100.)

Der untere Teil des Objektmarkierers mit der scharfkantigen Oeffnung ist innerhalb der Länge von Führungsschlitzen für 2 Stifte federnd beweglich und ermöglicht einen Druck mittelst des Instrumentchens auf das Deckglas auszuüben, ohne befürchten zu müssen, letzteres zu zerbrechen.

Nachdem eine gut isolierte Zelle in die Mitte des Gesichtsfeldes eingestellt ist, wird die feuchte Kammer wieder festgeklemmt und dann das Objektiv gegen den Objektmarkierer ausgewechselt. Zuvor wurde jedoch die scharfkantige Oeffnung desselben leicht auf das beigegebene Farbkissen aufgedrückt. Die aufgenommene Farbmenge ist von großem Einfluß auf das Gelingen der Markierung. Bei zu reichlicher Menge fließt der Ring zu einem Tropfen zusammen, der die Zellen verdeckt, bei zu wenig Farbe bleibt der Farbring um die Zelle entweder ganz aus oder er wird schwach und unvollständig. Fettige Deckgläser nehmen die Farbe nicht oder nur sehr schwer an. Die Farbringe werden übrigens selten tadellos; häufig bleibt ein Teil der Kreislinie aus. Wenn einerseits hierdurch in einzelnen Fällen das Auffinden der gewählten Zellen erschwert wird, so kann allerdings in anderen Fällen hieraus für die Orientierung auf der anzufertigenden Skizze Nutzen gezogen werden.

Der Tubus mit dem angeschraubten Objektmarkierer wird unter drehender Bewegung soweit gesenkt, bis letzterer das Deckglas fast berührt; die weitere Bewegung bis zur völligen Berührung wird mittelst der Mikrometerschraube ausgeführt. Diese Manipulation ist sehr vorsichtig vorzunehmen, nicht sowohl deshalb, um einen Bruch des Deckglases zu vermeiden, sondern deshalb, weil sich erfahrungsgemäß bei dem Aufdrücken des Markierers das Deckglas, das gewöhnlich nur mittelst Vaseline auf dem Ring der feuchten Kammer befestigt ist und niemals völlig horizontal liegt, leicht verschoben wird; die Folge davon ist, daß die Zelle nicht in die Mitte, sondern seitlich, unter Umständen auch außerhalb des Farbringes zu liegen kommt.

Dieser Uebelstand kann allerdings durch das Festkitten des Deckglases durch einige Tropfen Siegellack, wie es Hansen vorgeschlagen hat, oder mittelst Fischleim, wie es, soweit ich hierüber unterrichtet bin, die Kopenhagener Schule — allerdings, wie es scheint, aus anderen Erwägungen — macht, beseitigt werden. Im übrigen sind die bei Anwendung des Objektmarkierers noch auszuführenden Arbeiten — Anfertigung eines Situationsplanes etc. — die gleichen wie bei der einfachen Markierung der Zellen mit der Hand. Nebenbei möchte ich übrigens bemerken, daß ich immer wieder die Erfahrung mache, daß der Objektmarkierer verlassen wird, sobald eine andere Methode eingeübt ist.

Welche von den beiden zuletzt angeführten Methoden auch angewendet werden mag, keine erlaubt eine größere Einsaat von Zellen in die Gelatine. Hierdurch wird aber auch hier das Absuchen der Kulturen eine sehr mühsame und zeitraubende Arbeit. Außerdem ermöglicht keine derselben ein streng systematisches Absuchen der Kulturen, da jegliche Anhaltspunkte für dasselbe, wie sie die Tröpfchen-

kultur oder die sogleich zu beschreibenden geteilten Deckgläser bieten, fehlen.

Bevor ich jedoch auf letztere näher eingehe, muß noch kurz das Arbeitsverfahren von van Laer[1]) bei der Darstellung von Reinkulturen berührt werden, soweit es die Markierung der isolierten Zellen und der Kolonieen betrifft, indem ich im übrigen wieder auf die Ausführungen von Schönfeld[2]) verweisen kann.

Der Hauptzweck, welchen van Laer verfolgte, war der, die Hansen'sche Methode zu vereinfachen, da sich ihm bei genauer Befolgung Schwierigkeiten für ein schnelleres Arbeiten entgegenstellten. Der auf dem Objektträger aufgetragene und von einem quadratischen Glimmerplättchen bedeckte Gelatinetropfen darf jedoch auch hier nur sehr wenige Zellen enthalten.

Die Methode ergiebt, soweit ich aus eigener Erfahrung urteilen kann, ganz brauchbare Resultate.

Die Markierung der isolierten Zellen kann hier ebenfalls in einfachster Weise mit der Hand unter dem Mikroskop auf dem Plättchen ausgeführt werden. Nachdem die Zellen zu Kolonieen herangewachsen und letztere zum Abimpfen reif geworden sind, wird die Markierung auf der Unterseite des Objektträgers wiederholt.

Bei der Anwendung des Objektmarkierers werden, wie van Laer[3]) selbst bemerkt, durch den Druck desselben auf das Glimmerplättchen die Zellen leicht verschoben; er findet es daher besser, die Glimmerplättchen so, wie ich es für die Deckgläser bei Anwendung der Böttcher'schen feuchten Kammer angegeben habe, in kleine Quadrate zu teilen, die an der Seite mittelst einer feinen Feder nummeriert werden. Durch diese Einrichtung kann sich das Absuchen auf alle Teile des Gelatinetropfens erstrecken, besonders dann, wenn man die Kultur immer in bestimmter Richtung unter dem Mikroskop hinwegführt.

Zur Feststellung der Lage der Zellen innerhalb der kleinen Quadrate kann man sich dann weiter, wie ich sogleich ausführen werde, einer Okularteilung bedienen. Schon bei Anwendung des beweglichen Objekttisches mit Fadenkreuz erreicht man brauchbare Resultate.

Das Glimmerplättchen muß mit der aufgebogenen Ecke rasch in einem Zug, ohne die einmal gehobene Fläche mit dem Gelatinetropfen wieder in Berührung zu bringen, in die Höhe gehoben werden, um ein Verzerren und Vermischen der Kolonieen zu vermeiden, eine Gefahr, die allerdings bei schwacher Einsaat von Zellen gering ist.

Eine Kontrolle über die gelungene Abimpfung ist wohl möglich, bietet aber infolge der beim Aufheben des Glimmerplättchens eintretenden Verzerrung der Gelatineoberfläche und der Kolonieen nicht die Sicherheit und die Klarheit des Bildes, wie bei der Abimpfung der Böttcher'schen feuchten Kammer.

Ein gewichtiges Bedenken gegen die Kulturmethode überhaupt

---

1) Proceedings of the internat. Brewers' congress held in Brand's hall, in the city of Chicago, Ill. 1893. p. 67 u. 68.

2) l. c. p. 183.

3) l. c. p. 68. Anmerkung.

kann ich nicht unterdrücken. In der Regel wuchsen die am Rand der Gelatine gelegenen und in den ersten 24 Stunden völlig regelmäßigen Kolonieen der verwendeten Kulturhefen (im Laboratorium gezüchtet) sehr rasch „polypenförmig“ aus. Hierbei gingen häufig die anfangs rundlichen und ovalen Zellen in die gestreckte Form über; zuweilen ragten große Sproßverbände sehr langgestreckter, wurstförmiger Zellen aus den Kolonieen hervor. Es scheinen sich also in diesen randständigen Kolonieen offenbar unter dem Einfluß der Luft sehr rasch ähnliche Veränderungen zu vollziehen, wie sich dieselben nach meinen eingehenden Beobachtungen über die Wachstumsform verschiedener Kulturhefen in der Böttcher'schen feuchten Kammer, über welche ich demnächst an anderer Stelle berichten werde, regelmäßig, aber erst nach längerer Zeit vollziehen.

Ob es sich hier um eine einfache, vorübergehende Umgestaltung der Form oder um tiefergreifende Andeutungen, um einen Uebergang der eingesäten Mutterzellen in eine andere Generation der Hefe handelt, vermag ich zur Zeit nicht anzugeben, ebensowenig kann ich übersehen, ob derartige Aenderungen in der Wachstumsform auf festen Nährböden auch bei anderen als bei den von mir benutzten Hefen unter den gleichen Kulturbedingungen schon von anderer Seite beobachtet wurden. Mitteilungen hierüber in der Litteratur sind mir nicht bekannt.

Jedenfalls müßten diese Fragen erst klar gelegt werden, bevor die erwähnten Kolonieen zur Reinzucht verwendet werden können und die vorgeschlagene Kulturmethode sich zu allgemeiner Anwendung empfiehlt.

Als ich im Jahre 1884 anfing, an der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München Reinkulturen von Bierhefe im Großen herzustellen, befriedigten mich die damals bekannten Methoden zur Fixierung der Lage der isolierten Zellen in den Kulturen in keiner Weise. Denselben haftete immer ein gewisser Grad von Unsicherheit zumal dann an, wenn die Zahl der in die Nährgelatine eingesäten Zellen eine etwas größere war. Eine geringe Einsaat machte aber das Absuchen der Kulturen zu einer äußerst zeitraubenden, mühsamen und sehr anstrengenden Arbeit.

Bei der sehr großen Anzahl von Reinkulturen, welche ich meist gleichzeitig herzustellen hatte, wurde ich dazu gedrängt, unbeschadet der Sicherheit des Arbeitens, mir eine Methode zurechtzulegen, welche es ermöglichte, die für das Absuchen der Kulturen erforderliche Zeit möglichst abzukürzen. Zunächst erreichte ich dieses Ziel durch eine viel größere Einsaat von Hefe in die Nährgelatine, als bis dahin üblich war. Allerdings wachsen ja bei vermehrter Einsaat infolge rascher Erschöpfung des Nährbodens und der ausgeschiedenen Stoffwechselprodukte die Kolonieen nicht zu solcher Größe heran, wie bei geringer Einsaat. Gleichwohl entwickeln sie sich in letzterem Falle derart, daß das Abimpfen, selbst ohne weitere Hilfsmittel, keine Schwierigkeit bereitet. Dann aber suchte ich mir auf dem Deckglas der feuchten Kammer selbst unveränderliche, nicht nur mikroskopisch, sondern auch makroskopisch leicht sicht- und auffindbare Merkmale herzustellen, die nicht nur ein rasches, systematisches Absuchen der

Kulturen ermöglichten, sondern zu denen auch die Lage der zur Zucht ausgewählten, gut isolierten Hefezellen in Beziehung gebracht werden konnte. Es sollte hierdurch nicht nur ein rasches, absolut sicheres Wiederauffinden der isolierten Zellen bez. der aus denselben hervorgegangenen Kolonieen bei der fortlaufenden mikroskopischen Kontrolle, sondern auch beim Abimpfen der Kolonieen ermöglicht werden.

Ich erreichte dieses weitere Ziel dadurch, daß ich auf die eine Seite der auf die feuchte Kammer aufzulegenden Deckgläschen, auf welche die Nährgelatine mit den Hefezellen aufgetragen wurde, mittelst Flußsäure eine Reihe von sich rechtwinkelig schneidenden Linien einätzte, durch welche die Fläche derselben in eine große Anzahl kleiner Quadrate zerlegt wurde. Die Quadrate des oberen und linken Randes wurden numeriert. Bei den ersten Versuchen, welche ich mit diesen quadrierten Deckgläsern anstellte, zog ich die Linien in Abständen von nur 1 mm. So große Vorteile nun die kleine Fläche von nur 1 qmm für die Fixierung der Lage der Zellen unter dem Mikroskope bietet, kam ich jedoch sehr bald von dieser engen Teilung wieder ab, da durch dieselbe makroskopisch die Uebersicht nicht nur nicht erleichtert, sondern auch durch die vielen Linien erschwert wurde. Die Fläche des Deckglases wurde durch letztere zu unruhig und ermüdete das Auge beim Absuchen und Abimpfen sehr bald. Eine gewisse Erleichterung in dieser Hinsicht trat ein, sobald einzelne der Linien in gewissen Abständen stärker ausgezogen wurden. Die Herstellung der Teilung wurde jedoch hierdurch sehr kompliziert.

Durch eine Teilung in Abständen von mindestens 2 mm wurden diese Uebelstände völlig beseitigt und benutze ich Deckgläschen (Größe 26 : 21 mm) mit Quadraten von 2 mm Seite jetzt ausschließlich[1]).

Eine Skizze zur Einzeichnung der Lupe der isolierten Zellen innerhalb der kleinen Quadrate konnte damals allerdings auch noch nicht entbehrt werden.

Nachdem ich im Jahre 1885 in dem Organe der wissenschaftlichen Station für Brauerei, der Zeitschrift für das gesamte Brauwesen[2]), Mitteilung über die neue Methode gemacht hatte, wurde dieselbe von Alfred Jörgensen in Kopenhagen aufgenommen und in einer Richtung weiter ausgebaut, indem er, wie Emil Chr. Hansen im 3. Abschnitte — Contrôle sur le porte-objet du microscope — seiner Abhandlung: Méthodes pour obtenér des cultures pures de Saccharomyces et de microorganismes analogues[3]) mitteilt, nicht die äußerste obere und linke Reihe der Quadrate des Deckglases nummerierte, sondern in jedes einzelne Quadrat eine Nummer einsetzte. Letztere soll nicht nur dazu dienen, bestimmte Quadrate zu bezeichnen, sondern die Ziffern selbst bieten in ihrer Form ein wertvolles Hilfsmittel, um die Lage der Zellen anzugeben, deren Entwickelung zu Kolonieen man beobachten will. Ein Situationsplan ist aber auch noch nicht entbehrlich, selbst dann nicht, wenn die fixierten Zellen mittelst des Objektmarkierers mit einem Farberinge umzogen werden.

---

1) Dieselben werden von dem Mechaniker Carl Kollmann in München, Hofstatt 3, angefertigt.

2) 1885. No. 9. p. 173.

3) Medd. fra Carlsberg Laboratoriet. Bd. II. 1886. Résumé. p. 92.

Doemens[1]) giebt in dem Aufsatz: Ueber Hefereinzucht eine Abbildung der feuchten Kammer mit geteiltem Deckglas, wie sie, soweit ich hierüber unterrichtet bin, auch jetzt noch von der Jörgensen'schen Schule benutzt wird. Auf dem runden Deckglas sind 16 Quadrate eingezeichnet, welche von 2 bis 18 unter Eliminierung der Zahl 11 numeriert sind.

Kurze Zeit nach meiner ersten Mitteilung in der Zeitschrift für das gesamte Brauwesen hatte ich selbst die Methode noch weiter in der Richtung ausgebaut, daß alle Bedenken, welche wegen der Sicherheit in der Bestimmung der Lage der isolierten Zellen innerhalb der kleinen Deckglasquadrate noch hätten erhoben werden können, berücksichtigt waren. Eine Mitteilung hierüber habe ich bis jetzt weiteren Kreisen nicht gemacht. Mit 6 Zahlen kann der Ort, an welchem sich mit der zur Zucht ausgewählten Zellen befand, leicht und mit völliger Sicherheit wieder aufgefunden werden. War einmal die Lage einer dieser Zellen bestimmt, so ließen sich von hier aus auch alle anderen leicht auffinden, ohne mit dem Abzählen der Quadrate des Deckglases von vorn beginnen zu müssen.

Ich habe schon in meiner ersten Mitteilung den Weg kurz angedeutet, auf welchem ich dies erreiche. Die Quadrate des Deckglases werden durch eine am Okular des Mikroskopes angebrachte Teilung nochmals in kleinere zerlegt.

Die Okularteilung besteht in einem sogen. Okularmikrometer, einer runden Glasscheibe, deren ganze Fläche in quadratische Felder von 1 mm Seite geteilt ist. Großen Vorteil bietet es, wenn einzelne der sich rechtwinkelig kreuzenden Linien in bestimmten Intervallen, etwa von 5 zu 5 mm, stärker ausgezogen werden. Die Teilung wird hierdurch übersichtlicher und das Abzählen der Quadrate erleichtert.

Die geteilte Glasscheibe wird auf die Blende des Okulars aufgelegt.

Innerhalb bestimmter Vergrößerungen wird je ein Deckglasquadrat völlig von der Okularteilung bedeckt und ließe sich dann an jedem beliebigen Orte innerhalb der Deckglasquadrate die Lage einer Zelle mit großer Schärfe bestimmen. Leider sind jedoch die hierbei in Betracht kommenden Vergrößerungen so gering, daß sie höchstens zum Aufsuchen von sehr großen Kulturhefezellen verwendet werden können. Bei Anwendung des Vergrößerungssystems Zeiß Obj. AA. Ok. 3 ($^{75}/_{1}$), bei welchem das Deckglasquadrat noch vollständig von der Okularteilung bedeckt ist, sind die einzelnen Zellen von Kulturhefe, welche im Wassertropfen noch sehr leicht zu erkennen sind, in den Gelatinekulturen nur mehr sehr schwer aufzufinden; sie gleichen nicht selten den in der Gelatine zuweilen enthaltenen anderen Einschlüssen. Bei Anwendung des Okulars 4 treten zwar die Zahlen deutlicher hervor, es stellen sich jedoch andere, hier nicht näher auszuführende Uebelstände ein. Infolgedessen müssen in der Regel viel stärkere Vergrößerungen angewendet werden und können dann beim Absuchen nur bestimmte Teile der Deckglasquadrate, die Ecken derselben, in Betracht gezogen werden, wodurch zunächst mehr als 50 Proz. der

1) Allg. Brauer- und Hopfenztg. 1894. No. 25. p. 393.

Fläche eines Deckglasquadrates außer acht gelassen werden müssen. Es ist dies ein Mangel der Methode. Derselbe kann jedoch durch Herbeiziehung des beweglichen Objekttisches, der die Teilungen auf bestimmte Entfernungen zu verschieben gestattet, völlig beseitigt werden.

Das Absuchen der Kulturen und die Feststellung der Lage der isolierten Zellen in denselben gestaltet sich nach der angegebenen Methode in folgender Weise:

Nebenbei möchte ich jedoch zuvor bemerken, daß ich es zur leichteren Einführung in dieselbe immer wieder für praktisch gefunden habe, wenn man sich zunächst die ganze Situation unter dem Mikroskop bei schwacher Vergrößerung — etwa Zeiß Obj. AA. Ok. 1 — einprägt. Einige Schwierigkeiten bietet dem Ungeübten anfangs bisweilen beim Abzählen der Deckglasquadrate und bei der Bezeichnung der Lage der isolierten Zellen innerhalb derselben die Umkehrung des Bildes unter dem Mikroskop. Dieselben lassen sich sehr leicht in der Weise beseitigen, daß man ein Blatt Papier genau in der Weise wie das Deckglas in Quadrate einteilt und die obere und linke Reihe derselben wie dort numeriert. Dieses Blatt Papier legt man nun neben dem Mikroskop so auf, daß analog dem mikroskopischen Bilde der obere numerierte Rand nach unten und der linke nach rechts zu liegen kommt.

Zum Absuchen kann das Vergrößerungssystem Zeiß Obj. D. Ok. 1 ($^{175}/_1$) oder ein dem entsprechendes anderes verwandt werden; in der Regel benutze ich jedoch die Kombination Zeiß Obj. D. Ok. 2 ($^{235}/_1$), welche für die Mehrzahl der Fälle völlig ausreichend ist.

Das Absuchen der Kulturen beginnt man gewöhnlich in der Reihe der niedrigsten Nummer des oberen Randes. Zunächst unterrichtet man sich makroskopisch darüber, welches der Quadrate in dieser Reihe vollständig von Gelatine bedeckt ist. Quadrate, welche nur teilweise von einer Gelatineschicht überzogen sind, müssen bei der Auswahl von Zellen ausgeschlossen bleiben, da beim Abimpfen hier die Gelatine sehr leicht eintrocknet. Dann sucht man die entsprechende Zahl am oberen Rande des Deckglases — die Zahl der Abscissenreihe — unter dem Mikroskop auf. Bei den zu wählenden Vergrößerungen kommen hierbei in der Regel nur Bruchteile der Zahlen ins Gesichtsfeld, doch lassen sich dieselben an bestimmten charakteristischen Zügen erkennen, ohne daß es nötig erscheint, immer den ganzen Verlauf der eingeätzten Zahl zu verfolgen. Dem Ungeübten wird hier die Vergleichung mit den Ziffern auf dem nebenliegenden Papierblatte gute Dienste leisten.

Ich habe zur Numerierung arabische Zahlen gewählt, vielleicht mögen römische, die mir von anderer Seite vorgeschlagen wurden, dem Ungeübten bequemer sein.

Nachdem die Zahl am oberen Rande des Deckglases sicher bestimmt ist, sucht man durch Verschieben der feuchten Kammer das erste von der Gelatine völlig bedeckte Quadrat dieser Reihe auf, wobei man die Anzahl der Quadrate, welche das Gesichtsfeld passieren, genau feststellt. Man erhält hierdurch eine zweite Zahl — die Zahl der Ordinatenreihe —.

Durch diese beiden Zahlen ist das Deckglasquadrat genau gekennzeichnet und trägt man dieselben in einer bestimmten Reihenfolge in eine Tabelle ein. Es erscheint mir praktisch, an erster Stelle die Zahl der Ordinatenreihe (O) und an zweiter diejenige der Abscissenreihe (A) zu setzen.

Das Absuchen des durch die beiden Zahlen festgelegten Deckglasquadrates erfolgt dann in der Weise, daß man zwei der feinen, rechtwinkelig sich schneidenden Linien der Okularteilung möglichst genau an die in gröberen Linien markierten Seiten des Deckglasquadrates bei den Schnittpunkten in den Ecken anlegt. Die Okularteilung wird zuerst auf die rechte oder linke untere Ecke — im Gesichtsfelde — eingestellt. Die betr. Ecke wird soweit nach rechts oder links, bezw. oben oder unten geschoben, daß ein möglichst großes Stück der Fläche des Deckglasquadrates zu übersehen ist und von der Okularteilung bedeckt wird. Sodann senkt man den Tubus mittelst der Mikrometerschraube bis auf die Gelatineschicht[1]) und sucht dieselbe in verschiedener Höhe nach Zellen ab.

Nehmen wir an, wir hätten hierbei eine Zelle gefunden, welche innerhalb eines der kleinen Okularquadrate liegt, so zählen wir, um die Lage dieser Zelle, bezogen auf die Seiten des Deckglasquadrates, genau zu bestimmen, die Quadrate der Okularteilung bis zu der unteren, bezw. rechten oder linken Seite des Deckglasquadrates ab, wodurch wir weitere zwei Zahlen für die Ortsbestimmung der Zelle erhalten.

Es muß nun zum Ausdruck gebracht werden, ob die gefundene Zelle oben oder unten, rechts oder links im Deckglasquadrate liegt. Es geschieht dies dadurch, daß wir die beiden zuletzt gefundenen Ziffern in Beziehung zu der benachbarten niederen oder höheren Abscissen- bezw. Ordinatenreihe bringen.

Nachstehende schematisehe Zeichnung, welche ein Deckglasquadrat mit der an zwei diametral einander gegenüberliegenden Ecken angesetzten Okularteilung darstellen soll, möge dies veranschaulichen.

Das große Quadrat (Deckglasquadrat) sei durch die beiden Zahlen O_6, A_7 bestimmt. In der rechten Ecke desselben ist im dritten kleinen Quadrate (Okularteilung), von der unteren Seite des Deckglasquadrates gezählt, eine Zelle angedeutet. Von der rechten Seite des Deckglasquadrates gezählt, befindet sich die Zelle im sechsten Okularquadrate. Dem unteren Rande des Deckglasquadrates ist, wie uns ein Blick auf das nebenliegende geteilte Papierblatt zeigt, die Ordinatenreihe 5 und dem rechten Rande die Abscissenreihe 6 benachbart. Wir erhalten somit für die — im Gesichtsfelde des Mikroskopes — in der rechten unteren Ecke des Deckglasquadrates liegende Zelle den Ausdruck:

$$O_6, A_7 \left\{ \begin{matrix} 3 : 5 \\ 6 : 6 \end{matrix} \right.$$

Um Verwirrung zu vermeiden, sind die Zahlen, welche die Lage

1) Jörgensen — l. c. — meint, daß die Beobachtung erleichtert würde, wenn die Gelatine auf die geätzte Seite des Deckglases aufgetragen wird. In diesem Falle liegt natürlich die Gelatineschicht und Deckglasteilung gleichzeitig im Gesichtsfelde.

der Zellen zu den Seiten des Deckglasquadrates zum Ausdruck bringen, in der gleichen Reihenfolge aufzuführen wie die Zahlen für die Deckglasquadrate. Steht hier die Zahl der Ordinatenreihe voran, so sind auch die beiden Ziffern, welche die Lage zur Ordinatenreihe angeben, voranzustellen.

Für die in der oberen linken Ecke des Deckglasquadrates markierte Zelle ergiebt sich der Ausdruck:

$$O_6, A_7 \left\{ \begin{array}{c} 10:7 \\ 7:8 \end{array} \right.$$

Liegt die aufgefundene Zelle auf einem Teilstriche der Okularteilung, so ist es ganz konventionell, welchem der beiden benachbarten Quadrate man dieselbe zurechnen will; es ist nur das einmal angenommene Verfahren immer wieder einzuhalten. Liegt die Zelle auf einer der Linien, welche das Deckglasquadrat begrenzen, so wird die Entfernung = O, und wir erhalten dann beispielsweise für unsere Zelle in der rechten unteren Ecke bei gleichbleibender Entfernung nach der rechten Seite des Deckglasquadrates den Ausdruck:

$$O_6, A_7 \left\{ \begin{array}{c} 0:5 \\ 6:6 \end{array} \right.$$

Um eine aufgefundene Zelle zur Zucht verwenden zu können, muß dieselbe gut isoliert sein, worunter ich solche Zellen verstehe, bei welchen sich in einem Umkreise, dessen Radius der Länge von mindestens acht kleinen Quadraten entspricht, keine andere Zelle befindet.

Will man auf das Absuchen der ganzen Fläche des Deckglasquadrates nicht verzichten, so wird die Kultur mittelst des beweglichen Objekttisches zunächst nach rechts oder links, je nachdem die erste Einstellung der Okularteilung gemacht wurde, um einen aliquoten Teil, welcher einer bestimmten Anzahl von Teilstrichen entspricht, so daß die Entfernungen, ausgedrückt in der Anzahl der kleinen Quadrate, immer genau bekannt ist, verschoben. Später erfolgt dann in gleich systematischer Weise eine Verschiebung der Kultur in der zur ersten senkrechten Richtung.

Werden nun die Ecken abgesucht, so erfolgt die Verschiebung ebenfalls in systematischer Weise, indem beispielsweise zunächst unten die rechte und dann die linke, oben zuerst die linke und dann die rechte abgesucht wird. Hierauf schiebt man das Deckglasquadrat mit der nächst höheren Ordinatenziffer in das Gesichtsfeld und sucht bei diesem zunächst wieder die rechte untere Ecke, dann die linke und so fort ab.

Wenn eine Abscissenreihe bis zum letzten von der Gelatineschicht völlig bedeckten Quadrate durchmustert ist, wird das gleiche Verfahren bei der nächst höheren durchgeführt, indem man zunächst wieder die Zahl am oberen Rande des Deckglases unter dem Mikroskope einstellt, oder vom letzten abgesuchten Quadrat sofort auf das benachbarte der nächst höheren Abscissenreihe übergeht.

Bei einiger Uebung können mit Hilfe dieser Methode zwei Parallelkulturen bequem in einer Stunde abgesucht und bei einem richtigen Mengenverhältnis zwischen Hefe und Gelatine in jeder derselben bis zu 30 und mehr gut isolierte Zellen notiert werden, eine Anzahl,

welche mehr als hinreichend ist. Beim Absuchen der ganzen Fläche des Deckglases unter Benutzung des beweglichen Objekttisches können bei gleichmäßiger Verteilung 50—60 gut isolierte Zellen gefunden werden. Von letzteren werden später diejenigen ausgewählt, welche die besten Kolonieen entwickelt haben.

Die Durchführung der Reinkultur nimmt bei diesem Arbeitsverfahren nur etwa 2 Stunden in Anspruch.

Das Absuchen der Kulturen kann auch dann unter Mithilfe des beweglichen Objekttisches ausgeführt werden, wenn man nur die Ecken der Deckglasquadrate einstellt. Die Bewegungen der Kulturen werden hierbei ruhiger; der Beobachter ermüdet nicht so rasch und wird hierdurch die mit dem Absuchen verbundene große Anstrengung wenigstens in etwas herabgemindert.

Die Anwendung des beweglichen Objekttisches ist insbesondere im Sommer von Vorteil, wenn bei hoher Lufttemperatur die Gelatine leicht zur Verflüssigung neigt, indem die Kulturen vor der direkten Berührung mit der warmen Hand geschützt sind.

Die täglich vorzunehmende Kontrolle über die Entwickelung der ausgewählten und in ihrer Lage genau bestimmten Hefezellen zu Kolonieen ist eine sehr einfache Sache und nimmt sehr wenig Zeit in Anspruch. Mit Hilfe der 6 notierten Ziffern ist man jederzeit imstande, sowohl mikroskopisch wie makroskopisch die Zellen leicht aufzufinden. Der Ausdruck $O_6\ A_7 \left\{ \begin{matrix} 3:5 \\ 6:6 \end{matrix} \right.$ besagt uns, daß wir die zur Kolonie entwickelte Zelle makroskopisch in dem betreffenden, durch die Numerierung am oberen und linken Rande leicht aufzufindenden Deckglasquadrate in der linken oberen, unter dem Mikroskop in der rechten unteren Ecke zu suchen haben. Sobald einmal eines der Deckglasquadrate mit notierten Zellen bezw. Kolonieen vom numerierten Rand aus aufgesucht ist, erscheint es unnöthig, beim Uebergang in die nächste Abscissenreihe das Abzählen der Quadrate von vorn anzufangen.

Bei der Entwickelung der Zellen zu Kolonieen greifen letztere natürlich in der Regel über das kleine Quadrat der Okularteilung hinaus. Durch die tägliche Beobachtung über den Entwickelungsgang der Kolonieen und bei guter Isolierung können hierdurch Zweifel über die Identität kaum entstehen.

Eine äußerliche Markierung der Kolonieen ist bis zur Abimpfung völlig unnötig, ja sie kann auch dann noch bei einiger Uebung entbehrlich werden, indem sich sehr bald für das unbewaffnete Auge ein Maßstab für die mikroskopisch gemessenen Entfernungen herausbildet, der bei der Abimpfung kaum einen Fehlgriff machen läßt. Für den Anfänger ist es jedenfalls notwendig, daß er vor der Abimpfung nach vorausgegangener Kontrolle jedes einzelnen Quadrates die betreffenden Kolonieen wieder mit einem kleinen Tropfen Asphaltlack etc. markiert. Die so gekennzeichneten Kolonieen werden wiederholt auf ihre Uebereinstimmung mit den in der Tabelle verzeichneten kontrolliert. Die Markierung der Kolonieen bietet natürlich gegenüber der Markierung einer einzelnen Zelle absolut keine Schwierigkeit.

Beim Abimpfen selbst wird das Deckglas mit der Gelatinschicht

nach oben auf den Ring der feuchten Kammer gelegt und nach dem Ausstechen einer markierten Kolonie mit dem Platindraht [1]) sofort wieder in seine ursprüngliche Lage gebracht, um das Austrocknen zu verzögern. Mit Vorteil wird die feuchte Kammer, wie überhaupt beim Abimpfen, auf eine dunkel gefärbte Glasplatte gelegt.

Unter allen Umständen wird an der Stelle, wo die abgeimpften Kolonieen lagen, sofort nach Abimpfung der ganzen Kultur und Entfernung der Lack-, Tinte- oder Tuschetropfen eine letzte Kontrolle mit Hilfe der Tabelle ausgeführt, um ein Urteil darüber zu gewinnen, ob die Abimpfung auch eine tadellose war. Jedes der geimpften Würzekölbchen trägt eine mit der Kolonie korrespondierende Nummer, so daß jede Kolonie von der weiteren Vermehrung ausgeschlossen werden kann, sobald sich durch die Kontrolle für die Abimpfung derselben irgendwelche Mißgriffe ergeben.

Die Methode eignet sich auch ganz besonders zu Monate hindurch fortgesetzten Beobachtungen über die Wachstumserscheinungen bestimmter Kolonieen, bei welchen die Tröpfchenkultur, wenigstens nach meinen Erfahrungen, nicht anwendbar ist.

Die im Vorstehenden angegebene Methode zur Feststellung der Lage der isolierten Hefezellen in Gelatinekulturen hat sich bei den Hunderten von Reinkulturen, welche ich während eines Zeitraumes von jetzt mehr als 10 Jahren durchführte, selbst in den schwierigsten Fällen auf das beste bewährt. Nachdem es sich dabei, wie bei der Tröpfchenkultur, nur um ganz bestimmte Zahlenverhältnisse handelt und die Inanspruchnahme anderer Hilfsmittel zur Bestimmung der Lage der Zelle, wie Skizzen, in die Gelatine eingeschlossener Krystalle und anderes ausgeschlossen ist, bietet dieselbe in Verbindung mit der rasch und leicht durchführbaren fortwährenden Kontrolle unter allen Umständen einen hohen Grad von Sicherheit.

Referate.

Müller-Thurgau, H., Die Herstellung unvergorener und alkoholfreier Obst- und Traubenweine. 1. u. 2. Aufl. 8°. 31 p. Frauenfeld (J. Huber) 1896.

Bekanntlich besteht die bisher allein übliche Methode der Aufbewahrung der Fruchtsäfte darin, daß man dieselben vergären läßt. Der Zucker verschwindet dabei und der entstehende Alkohol wirkt als ein fäulniswidriger Stoff. Es ist nun fraglich, ob die Menschen des Alkohols wegen vergorene Getränke darstellten, oder darum, weil es ihnen nicht möglich war, die Gärung zu verhindern. Der Verf. hat sich die Aufgabe gestellt, die Getränke in unvergorenem Zustande

1) Ich verwende hierzu ca. 1 cm lange Stückchen sehr feinen Platindrahtes, welche mit ausgeglühter Pincette gefaßt und in die Pasteurkölbchen mit Würze fallen gelassen werden.

aufzubewahren. Diese Art der Aufbewahrung stellt an unsere Aufmerksamkeit und Geschicklichkeit höhere Anforderungen. „Dafür wird aber nicht nur ein wertvolleres Produkt erzeugt, sondern es bleibt dasselbe auch vor den mannigfaltigen Zersetzungserscheinungen, Krankheiten und Fehlern bewahrt, welche alljährlich den Wert unserer Moste und Weine beeinträchtigen. Im Laufe der letzten Jahre habe ich eine Methobe zur Darstellung unvergorener Trauben- und Obstsäfte ausgebildet und angewendet, die ich hiermit zum allgemeinen Besten der Oeffentlichkeit übergebe, und es steht zu hoffen, daß schon im kommenden Herbste ein großer Teil unserer Fruchtäfte unvergoren aufbewahrt werde, statt daß man sie der Gärung überläßt.“ Auf drei Wegen kann man das besagte Ziel erreichen. Man kann den Fruchtsäften gärungshemmende Substanzen zusetzen; die Pilze durch Filtration entfernen; oder endlich dieselben, wie man dies von alters her gethan, „durch Erwärmen der Säfte auf bestimmte Temperaturgrade töten“. Die zuletzt genannte Methode wählte der Verf. (Beiläufig bemerkt, erwiesen sich unvergorene Getränke, denen zur Verhinderung der Gärung Salicylsäure, Benzoësäure u. a. m. zugesetzt wurden, als gesundheitsschädlich; die Schwierigkeit der Filtrierung frischer Traubensäfte ist bekannt), und der Verf. sagt über dieselbe: „Unsere Methode, Obst- und Traubensäfte durch Erwärmung und Abschluß von Pilzen zu konservieren, beruht auf den gleichen Prinzipien wie das Pasteurisieren des Weines; das Verfahren erforderte jedoch manche Aenderung, da pasteurisierte Weine durch ihren Gehalt an Alkohol und ihre sonstige Beschaffenheit in gewissem Grade gegen die Wirkung eindringender Hefe und sonstiger Pilze geschützt sind, unvergorene Säfte dagegen nicht.“ „Um bei meinen Untersuchungen über die Gärung des Weines nicht auf die Herbstzeit beschränkt zu sein, konservierte ich schon von Anfang der 80er Jahre an alljährlich eine größere Menge Traubensaft durch Pasteurisieren. Derselbe wurde zu diesem Zwecke sofort von der Presse weg in Flaschen gefüllt, und nachdem diese zugestopft und verbunden waren, in einem mit Wasser angefüllten Kochkessel auf 70 ° C erwärmt. Die Erfahrung zeigte, daß die Temperatur, ja selbst geringere Wärmegrade genügten, die Hefe und die sonstigen Pilze zu töten.... So behandelte Traubensäfte und solche, die hernach filtriert und pasteurisiert wurden, hielten sich über ein Jahrzehnt unverändert, und ich bin z. B. im Besitze von einigen Flaschen 82er Traubensaft, der noch unvergoren und unverdorben ist.“

Um die Trauben- und Obstsäfte zu konservieren, läßt sie der Verf. im trüben Zustande, wie sie von der Kelter laufen, erwärmen (das erste Mal $^1/_4$ Stunde lang auf 60 ° C). Nunmehr ist die Filtration viel leichter zu bewerkstelligen, da die sog. Trubbestandteile und sonstige schleimige Substanzen, welche sonst die Filtration erschweren, bei der Erwärmung in festen Flocken ausgeschieden werden. Die Filtration selbst kann auch nach Jahresfrist erfolgen, und es muß dann ein nochmaliges Pasteurisieren vorgenommen werden. Bei diesem zweiten Pasteurisieren erfolgt nach Versuchen des Verf.'s keine Trübung, sofern man bei der Erwärmung eine höhere Temperatur als das erste Mal anzuwenden vermeidet.

Es wird Aufgabe der Technik sein, der Anregung Müller-Thurgau's die notwendige technische Unterlage zu verschaffen. Die Anregung ist in der Schweiz selbst auf keinen unfruchtbaren Boden gefallen, denn es hat sich vor kurzem eine Aktiengesellschaft für den genannten Zweck gebildet. Sie führt den Titel: Erste schweizerische Aktiengesellschaft zur Herstellung unvergorener und alkoholfreier Trauben- und Obstweine in Bern. Die genannte Gesellschaft wird vom Herbste dieses Jahres an unvergorene Trauben- und Obstweine nach dem sog. Wädensweiler Verfahren des Professors Müller-Thurgau herstellen. Die neugegründete Gesellschaft hat sich unter das Protektorat und Patronat der schweizerischen Abstinenz- und Temperenz-Organisationen und namentlich des schweizerischen Alkoholgegnerbundes, des Guttemplerordens, des schweiz. Mäßigkeitsvereins vom Blauen Kreuz u. a. m. gestellt, welchen laut Statuten ein Teil des Reingewinnes zufällt. Maurizio (Zürich).

Müller-Thurgau, H., Ueber neuere Erfahrungen bei der Anwendung von Reinhefen in der Weinbereitung. (S.-A. aus Weinbau und Weinhandel. 1896. No. 40—42.)

Die Schrift ist die Wiedergabe eines Vortrages, den der Verf. bei Gelegenheit des 14. Deutschen Weinbau-Kongresses in Neustadt a. d. Haardt hielt. — Schon in einer früheren Abhandlung wies der Verf. nach, „daß es in der That gelingt, durch richtige Verwendung einer geeigneten Reinhefe die Gärung dermaßen zu beschleunigen und den Vorgang selbst so zu steigern, ... daß ein großer Teil der nachteilig wirkenden ... Schimmelpilze gar nicht zur Wirkung gelangen, während andere, wie z. B. nachteilig wirkende Hefearten und hefeähnliche Pilze frühzeitig in ihrer Entwickelung gehemmt werden und daher weniger ungünstig wirken können.“ Verf. geht zur Behandlung der Erfolge über und stützt sich dabei in erster Linie auf die auf der Versuchsstation und in den Kellereien in Wädensweil ausgeführten Untersuchungen und auf die Berichte derjenigen Praktiker Deutschlands und der Schweiz, die mit seinen Heferassen Versuche im Großen angestellt haben. Er erwähnt im weiteren die mit dem Verfahren verbundenen Schwierigkeiten, die Nichterfolge und etwaige ungünstige Wirkungen der Reinhefe.

Bei eigenen Versuchen des Verf.'s sind ausnahmslos günstige Erfolge zu verzeichnen; dafür sprechen die Kostprobe, der ganze Verlauf der Gärung und schließlich der erzielte Preis des Wädensweiler Anstaltsweines. Auch aus dem Kreise der Praktiker, welche die Reinhefe anwandten, sind durchweg nur günstige Berichte eingelaufen. Die mit Weißwein erzielten Erfolge lassen sich dahin zusammenfassen: Die Hauptgärung verläuft rascher, ist daher früher abgeschlossen, die Weine klären sich schneller. Die vom Verf. gesammelten Erfahrungen haben darauf hingewiesen, daß bei der Wahl der Reinhefe das Hauptgewicht auf eine rasche Vermehrungsfähigkeit und energische Gärwirkung zu richten ist und daß die übrigen Eigenschaften der Hefen erst in zweiter Linie in Betracht zu ziehen sind. Für diese Zwecke verwendet der Verf. schon seit 7 Jahren die in den praktischen Betrieb eingeführte Steinbergerhefe. — Auch bei Qualitätsweinen

hat die Reinhefe auf den Verlauf der Gärung eingewirkt, wofür vom Verf. einige Beispiele angeführt werden.

Die von anderer Seite festgestellte Thatsache, daß derselbe Most, wenn er mit verschiedenen Heferassen vergoren wird, Weine von mehr oder weniger abweichendem Säuregehalt giebt, konnte Verf. bestätigen. Diese Frage des Verhältnisses des Säuregehaltes zur Hefe ist noch nicht zur Klärung gelangt und Verf. hatte den Eindruck erhalten, daß die Fähigkeit der Hefe, den Säuregehalt zu vermindern, von der Natur der Säure abhängt, von der Form, in welcher dieselbe vorhanden ist und ob die Ernährungs- und sonstigen Verhältnisse günstig sind. Bei der Anwendung in der Praxis kam diese Eigenschaft der Heferassen, auf den Säuregehalt einzuwirken, nicht immer in erwünschter Weise zum Ausdruck.

Von Wortmann in Geisenheim wurde gezeigt, daß die aus einer gewissen Quantität Zucker durch verschiedene Heferassen bei der Vergärung erzeugten Mengen von Alkohol und Glycerin nicht immer die gleichen waren. Die vom Verf. gemachten Versuche ließen, wenn auch nicht konstant, diesen Einfluß der Heferassen erkennen. So hatte die schon erwähnte Steinbergerhefe „stets, auch in verschiedenartigen Weinen, einen etwas höheren Alkoholgehalt erzeugt, als die zum Vergleich herangezogene Rauentalerhefe.“ Die Wirkung des Zusatzes einer Reinhefe wird dabei von der Eigenhefe des Weines beeinträchtigt und die praktischen Erfahrungen des Verf.'s haben ihn dazu geführt, bei Auswahl der Heferassen diese Eigenschaft erst in zweiter Linie zu berücksichtigen.

Verf. wendet sich auch der Bouquetfrage zu und faßt den heutigen Stand derselben mit folgenden Worten zusammen: „So wenig befriedigend auch heute noch der Stand unserer Kenntnisse vom Wesen des Weinbouquets und dessen Beeinflussung ist, so haben die gemachten Erfahrungen doch bewiesen, daß man durch richtig ausgewählte Heferassen einen günstigen Einfluß auf dasselbe nicht nur in geringeren und mittleren, sondern auch bei feinen Weinen auszuüben vermag.“

Für die Einwirkung der Reinhefen bei Rotwein steht keine so große Zahl von Versuchen zur Verfügung wie bei Weißwein, und die Resultate zeigen sich nicht in der Weise übereinstimmend günstig. Es ist dem Verf. gelungen, die Ursache der Mißerfolge zu finden; sie waren verursacht durch die Wahl der zu den Versuchen verwendeten Heferassen. Seitdem Verf. für die Gärung der Rotweine Heferassen verwendet, die aus hervorragenden Rotweinen stammen, ist er dazu gelangt, auch bei den Versuchen im Großen bei Rotwein günstige Resultate zu erzielen.

Günstige Resultate ergaben auch die im Großen, namentlich in rheinischen Schaumweinkellereien vorgenommenen Versuche mit Reinhefe bei der Schaumweinfabrikation. Es wurde dabei gewissen Champagnerweinhefen der Vorzug gegeben.

Eine weitere Verwendung findet die Reinhefe bei Nachgärungen und Umgärungen namentlich auch bei „kranken“ Weinen, welche filtriert oder geklärt wurden und denen dann nach Zuckerzusatz Reinhefe zugesetzt wurde.

Der Verf. hatte schon in früheren Publikationen auf die Wichtig-

keit der Reinhefe für die Obstwein- und Beerenweinbereitung hingewiesen; die in den letzten Jahren gesammelten Erfahrungen hatten seine früheren Versuchsergebnisse nur bestätigt.

Wenn die bisher erwähnten Ausführungen uns zeigten, „welch mannigfaltige und großartige Erfolge mit der Anwendung von Keimhefen verknüpft sein können", so dürfen Fälle, in denen die Anwendung der Reinhefe weder Vorteile noch Nachteile brachte, nicht verschwiegen werden. Die Wirkung kann namentlich darum ausbleiben, weil die Hefe zu alt war — wenn man Reinhefe besitzt, von deren Frische man nicht überzeugt ist, kann man dieselbe noch vor der Anwendung in pasteurisiertem Moste auffrischen. — Es muß durch Versuche festgestellt werden, welche Reinhefe einem bestimmten Weine zugesetzt werden soll, und es ist selbstverständlich, daß eine „sonst kräftige Weißweinhefe in Rotwein oder Birnwein unter Umständen nicht in der erwarteten Weise zur Geltung" kommt. Im übrigen kann der Erfolg auch ausbleiben wegen zu spätem Zusatz der Reinhefe. Der Verf. empfiehlt, die Reinhefe sofort beim Zermahlen der Trauben, also in der Regel schon im Weinberge zuzusetzen".

Verf. bespricht auch einige nachteilige Folgen des Hefezusatzes. Ein solcher Nachteil kann verursacht werden durch verunreinigte Reinhefen, in denen Bakterien oder Sacch. apiculatus vorkamen.

Zum Schlusse bespricht der Verf. noch die Frage der Ansiedelung guter Heferassen im Weinbergsboden, über welche er schon früher (Weinbau u. Weinhandel. p. 428 ff.) Mitteilung machte. Nach den vom Verf. vorgenommenen Versuchen kann von einer Vermehrung der Hefe im Boden wohl kaum die Rede sein. Hingegen hält die Hefe unter den im Weinbergsboden obwaltenden Verhältnissen „mindestens ein Jahr aus, also lange genug, um auf den reifenden, aufspringenden oder abfallenden Beeren wieder Gelegenheit zur Vermehrung zu finden, so daß demnach durch Ausstreuen von Trestern eine dauernde Ansiedelung ganz vorzüglicher Heferassen in einem Weinberge möglich ist, wo bisher nur weniger günstig wirkende sich vorfanden". Ausführlichere Mitteilungen über diesen speziellen Gegenstand enthält der IV. Jahresbericht der deutsch-schweizerischen Versuchsstation und Schule für Wein-, Obst- und Gartenbau in Wädensweil p. 86 ff.

Maurizio (Zürich).

Wagner, G., Beiträge zur Kenntnis der Pflanzenparasiten. (Zeitschr. f. Pflanzenkr. 1896. p. 76.)

Verf. bringt einige Notizen über das schädliche Auftreten von Discomyceten in den Wäldern am großen Winterberge in der sächsischen Schweiz.

Dermatea cinnamomea tritt epidemisch an Eichen im Laubmischwalde auf. Der Konidienpilz sitzt unter der Rinde lebender Bäume und tötet sie etwa in 2—3 Jahren. Erst am abgestorbenen Baume bilden sich die Apothecien.

Auf Fagus silvatica findet sich der von Rehm als var. fagicola bezeichnete Pilz. Da das Konidienlager fehlt, möchte Verf. den Pilz als eigene Art betrachten.

Pezicula carpinea tötet nach 3—4 Jahren die ergriffenen

Weißbuchen. Ebenso wie vorige Art dringt das Mycel nur in Verletzungen ein. Infektionsversuche gelangen.

Ueber Pezicula acerina sind die Untersuchungen noch nicht zum Abschluß gebracht.

Zu einem früheren Artikel über die Blasenroste der Kiefern giebt Verf. einige Korrekturen, welche die Benennung von Peridermien betreffen. Lindau (Berlin).

Magnus, P., Eine neue Uredineengattung Schroeteriaster, gegründet auf Uromyces alpinus. (Berichte der Deutschen Botan. Gesellsch. 1896. p. 129.) Mit Taf. IX.

Bei der vergleichenden Untersuchung der Rumex bewohnenden Uredineen fiel es Verf. auf, daß Uromyces alpinus ganz anderen Bau der Teleutosporenlager zeigte, als die übrigen Uromycesarten. Während bei letzteren die Teleutosporen gestielt und von einander getrennt sind, bilden sie bei Uromyces alpinus ein linsenförmiges, fest zusammenhängendes Lager und sind ohne jeden Stiel. Das Lager wächst am Rande nicht weiter, wohl aber werden von den zunächst darunter liegenden Hyphen wieder Lagen von Teleutosporen gebildet, so daß zuletzt 4—5 Schichten über einander stehen. Auf Grund dieses ganz abweichenden Baues hat Magnus die neue Gattung Schroeteriaster begründet. Der Bau der Lager entspricht völlig dem der Melampsoreengattung Phakopsora.

Ferner teilt Verf. die Unterschiede der Uredosporen der verschiedenen, auf Rumex vorkommenden Uredineen mit. Es hat Puccinia Acetosae 2, Uromyces Rumicis 3, Schroeteriaster alpinus 4 Keimsporen. Uromyces Acetosae besitzt 2—3 Poren an den Uredosporen, aber gleichzeitig viel dichtere Bestachelung als die übrigen Arten. Lindau (Berlin).

Takahashi, Y., On Ustilago virens Cooke and a new species of Tilletia parasitic on rice-plant. (Botanical Magazine Tokyo. Vol. X. No. 109. Part. II. p. 16—20. Pl. II.)

Verf. ist durch seine Untersuchungen zu dem Resultat gelangt, daß Ustilago virens Cooke, der Reisbrand, mit Tilletia Oryzae Patouillard identisch und wie dieser nur die Chlamydosporenform des eigentümlichen Brandlager bildenden Mutterkornpilzes (Hypocreaceen) ist, den Brefeld als Ustilaginoidea Oryzae (Pat.) in Bd. LXV. No. 4 des Bot. Centralbl. beschrieben hat. Sind hiernach die bislang als Brandpilze betrachteten Parasiten des Reises keine solchen, sondern die Nebenfruchtformen eines Ascomyceten, so hat andererseits der Verf. in Tokyo und Kyoto in Japan einen echten Brandpilz des Reises aufgefunden, den er als Tilletia horrida n. sp. beschreibt. Ludwig (Greiz).

Wakker, J. H. en Went, F. A. F. C., Overzicht van de ziekten van het suikerriet op Java te Deel. Met plaat. (Archief voor de Java-Suckerindustrie. 1896. Afl. 9. 11 Seiten.)

Die Uebersicht über die bisher auf Java beobachteten Krankheiten des Zuckerrohres umfaßt folgende Krankheiten:

Brand (durch Ustilago Sacchari Rbh.), Ananasziekte (durch Thielaviopsis aethaceticus Went), Rood-snot (durch Colletotrichum falcatum), Dongkellan-ziekte (durch Marasmius Sacchari Wakker), Rood Rot (durch einen unbestimmten Schimmel), Zuur Rot (Pilz noch nicht näher bekannt), Geelvlekken-ziekte (Blätter, durch Cercospora Köpkëi Krüger), Blattrost (durch Uredo Kühnii (Krüger) Went et Wakker), Roodvlekken-ziekte (Blätter, durch Coleroa Sacchari van Breda de Haan), Ringfleckenseuche der Blätter (durch Leptosphaeria Sacchari van Breda de Haan), Oogvlekken-ziekte (Blätter, durch Cercospora Sacchari van Breda de Haan), Bladvlekken-ziekte (durch Pestalozza sp.), Zwarte-oogvlekken-ziekte der bladscheeden (Cercospora vaginae Krüger), Djamoer oepas (durch einen Schimmel), Bontvlekken-ziekte der rietbladeren, Serch-ziekte, Gelestrepen-ziekte der bladen, Strepen-ziekte der Stengel, Chlorose („Pokkah-bong"), Hartziekte van jonge rietplantjes, Bloedvlekken-ziekte der rietbladeren. Ludwig (Greiz).

Wehmer, C., Ueber die Ursache der sog. Trockenfäule der Kartoffelknollen. (Ber. der Deutschen Botan. Ges. 1896. p. 101. Mit Textfig.)

Als hauptsächlichste Krankheiten der Kartoffelknollen unterscheiden wir die Naß- und Trockenfäule, deren Krankheitsbilder genügend charakteristische Züge aufweisen. Die erstere Erkrankung zerstört die Knollen unter totaler Verflüssigung des Inneren unter Auftreten des charakteristischen Buttersäuregeruchs. Aeußerlich scheinen eine Zeit lang die Knollen unverändert. Bei der Trockenfäule zersetzt sich das Innere in eine anfangs braune, lockere, später graue, kompakte Masse mit Schrumpfung der Schale und reichlicher, innerer und oberflächlicher Pilzbildung. Zwischen diesen beiden Extremen kann man noch ein mittleres Krankheitsbild unterscheiden, bei dem eine breiartige Zersetzung mit stärker oder schwächer ausgesprochenem Fäulnisgeruch stattfindet. Außen und innen finden sich Pilzhyphen, im Innern auch Bakterien.

Von diesen 3 Arten hat der Verf. die typische Trockenfäule näher studiert. Es treten dabei hauptsächlich Schimmelpilze auf, wie Fusarium Solani, Spicaria Solani. Um zu zeigen, daß namentlich ersterer Pilz hauptsächlich die Krankheit hervorrufe, wurden Infektionsversuche gemacht. Es ergaben sich dann die typischen Symptome der Trockenfäule bei Abwesenheit von Bakterien. Diese Infektionen sind nicht zu jeder Zeit zu machen, sondern gelingen nur, in der Zeit bis gegen Weihnachten, nachher erwiesen sich die untersuchten Sorten meist immun. Die mikroskopische Prüfung ergiebt daß Fusarium hauptsächlich die Gewebe vernichtet. Die Zellen zeigen sich nach allen Richtungen hin von Pilzhyphen durchsetzt. Zur Reinkultur läßt sich zweckmäßig ein Stück von solchem durchwucherten Gewebe benutzen.

Zu ganz ähnlichen Resultaten wie Wehmer, daß Fusisporium Solani (oder Fusarium S.) die Trockenfäule verursacht, ist kurz

vor ihm Pizzigoni gekommen in einer Arbeit, die im Nuovo Giornale Botanico Italiano. 15. Jan. 1896. p. 50 veröffentlicht ist.

Lindau (Berlin).

Aderhold, R., Cladosporium und Sporidesmium auf Gurke und Kürbis. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. 1896. p. 72.)

Auf Treibgurken in einer Breslauer Gärtnerei fand Aderhold einen Pilz, der sich als identisch mit Cladosporium cucumerinum Ell. et Arth. erwies. Es wurden Impfungsversuche auf Freilandgurken gemacht, welche sehr gut gelangen, da zuerst nur die geimpften Früchte, dann auch die nicht geimpften derselben und der Nachbarpflanzen, endlich auch des Nachbargartens erkrankten. Der Pilz verbreitet sich also schnell weiter und kann eine epidemische Krankheit erzeugen.

In der Nähe fand sich auf Kürbisfrüchten ein Cladosporium, das höchstwahrscheinlich identisch mit dem auf Gurke ist. Allerdings gelangen die Impfungen des Gurkenpilzes auf Kürbis nicht. Verf. möchte aber äußere Umstände für diesen Mißerfolg verantwortlich machen.

An denselben Kürbisfrüchten trat gleichzeitig ein Sporidesmium auf, das identisch mit S. mucosum var. pluriseptatum war. Auf Gurkenblättern wurde genau derselbe Pilz beobachtet, wo er eine Blattfleckenkrankheit erzeugte.

Beide Pilze hat Verf. längere Zeit kultiviert, ohne indessen einen Zusammenhang zwischen beiden oder eine weitere Fruktifikation nachweisen zu können.

Lindau (Berlin).

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralblatt

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Krakau, Prof. Dr. **M. W. Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

II. Band. Jena, den 28. August 1896. **No. 16.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige ***Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original-Mittheilungen.

Stickstofffreie Mikroorganismen und Enzyme?

[Aus dem hygienischen Institute der Kgl. Universität Rom.]

Versuche

von

Dr. **Claudio Fermi**, Privatdozent.

Ich beobachtete vor einigen Jahren, als ich meine Untersuchungen über die Ausscheidungen von Enzymen und Eiweißstoffen von seiten der Bakterien[1]) ausführte, daß manchmal verschiedene Hyphomyceten,

1) Claudio Fermi, Weitere Untersuchungen über die tryptischen Enzyme der Mikroorganismen. (Arch. f. Hygiene. Bd. XIV. 1896.)

Saccharomyceten und Oidien auf stickstofffreien Nährböden prächtig gedeihen. Auch die von verschiedenen Autoren beobachtete Veränderlichkeit und Instabilität in der Zusammensetzung der Mikroben, nach welcher der Subtilis, wie Vandervelde[1]) und Vinzenzi[2]) bemerkten, nur Cellulose enthält, während die Membran des Leuconostoc mesenterioides nach Scheibler u. Durin[3]) fast ausschließlich aus derselben Substanz besteht, und die Thatsache, daß Naegeli und Löw[4]) in einer auf Ammoniumtartrat entwickelten Kultur den Stickstoff in einem Verhältnisse von 5—7—11 Proz. fanden, bei der Essigmutter aber nur 1,82 Proz., veranlaßten mich vor einigen Jahren, nachzuforschen, ob das Leben ohne Stickstoff möglich wäre, ob lebende Wesen existierten, deren Körper keine Spur von diesem Elemente enthält und ob die bei derartigen Verhältnissen eventuell gebildeten Enzyme stickstofffreie Körper wären. So viel ich weiß, waren und sind jetzt solche Fragen noch nicht so klar vorgelegt worden.

Die vor Kurzem erschienene Arbeit von Winogradsky[5]), der unter den verschiedenen von ihm untersuchten Arten nur ein Clostridium fand, das fähig war, den atmosphärischen Stickstoff festzuhalten, und die von v. Zinno veranlaßten mich, meine Untersuchungen zu vervollkommnen und zu veröffentlichen.

A. Stickstofffreies Leben und Mikroorganismen.

Untersuchungsmethoden. Man kann die Autoren, die sich mit diesem Gegenstande befaßten, in zwei Gruppen einteilen; solche, die einfach die Verbindung des atmosphärischen Stickstoffes (Berthelot, Winogradsky), und solche, die in mehr oder minder vollständiger Weise die Zusammensetzung der Mikroorganismen studierten (Nencki[6]), Cramer[7]) etc.). Keine dieser Arbeiten beantwortet aber die Frage, die ich mir gestellt, weil nicht einer von den Experimentatoren folgende Vorsichtsmaßregeln in seinen Untersuchungen angewandt hat:

1) sich reiner Kulturen zu bedienen;
2) vollkommen stickstofffreie Nährböden und Behälter zu gebrauchen;
3) große Mengen von Material zu analysieren;
4) sich einer viel empfindlicheren Methode als der von Kjeldahl zur Bestimmung des Stickstoffes zu bedienen;
5) die Analysen an Kulturen verschiedenen Alters zu wiederholen;
6) nicht zu vergessen, zugleich die auf stickstoffhaltigen Nährböden entwickelten Mikroorganismen zu analysieren.

---

1) Vandervelde, Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. VIII.

2) Vincenzi, Ueber die chemischen Bestandteile der Spaltpilze. (Zeitschr. für physiolog. Chemie. Bd. XI. p. 181.)

3) Scheibler und Durin, Von de Bary citiert. p. 493.)

4) Von Flügge citiert.

5) Winogradsky, Recherches sur l'assimilation de l'azot libre etc. (Arch. des sciences biologiques. Bd. VII. 1894.)

6) Nencki, Ueber das Eiweiß der Milzbrandbacillen. (Berichte d. Deutsch. Chem. Gesellschaft. Bd. VII. p. 2608.)

7) Cramer, Die Zusammensetzung der Bakterien. (Arch. f. Hygiene. Bd. XVI. p. 151.)

Zu diesem Zwecke stellte ich folgende Untersuchungen an:

1) Ich impfte mit reinen, 24—48-stündigen Agarkulturen eine chemisch reine Lösung von Saccharosium. Diese übertrug ich auf eine zweite, dann auf eine dritte und endlich auf die zu analysierende Lösung. Dies geschah, um auch die kleinsten Teile von Eiweißstoffen, die aus der Agarkultur mitgebracht werden konnten, möglichst auszuschließen.

2) Ich gebrauchte das reinste und einfachste Substrat, nämlich eine 3-proz. Lösung von Saccharosium in destilliertem Wasser, das nach der Methode von Soxhlet gereinigt worden war; indem ich den Auszug von 20 Liter Lösung prüfte, versicherte ich mich im voraus, daß darin nicht einmal Spuren von Stickstoff enthalten waren. Die Behälter, in denen die Lösung aufbewahrt wurde, wurden 1 Stunde lang in einer Lösung von permangansaurem Kali und Schwefelsäure bei Siedehitze gehalten, dann mit destilliertem Wasser, Oxalsäure und wiederum mit destilliertem Wasser gewaschen und vollständig trocken gemacht.

3) Ich impfte viele 1 oder 2 Liter Saccharosiumlösung enthaltende Flaschen mit einer jeden Art von Mikroorganismen; auf diese Weise konnte ich mit verhältnismäßig großen Mengen, 1—2 g reiner, trockener Substanz, meine Untersuchungen anstellen.

4) Um den Stickstoff zu bestimmen, bediente ich mich nicht der Kjeldahl'schen Methode, die sich wohl für quantitative Analysen bewährt, aber nicht empfindlich genug ist, um Spuren von Stickstoff nachzuweisen (um die Menge des Stickstoffes kümmerte ich mich nicht); ich gebrauchte statt deren die höchst empfindliche Reaktion von Lassaigne (der vollkommen trockene Rest wird mit metallischem Natrium zur Glühhitze gebracht, mit Natronlauge und einer Lösung von einem Eisenoxydul und einem Eisenoxydsalze gekocht, nachher filtriert, dem Filtrate wird chemisch reine Salzsäure hinzugefügt; wenn Stickstoff unter jedweder Form vorhanden ist, entsteht entweder ein Niederschlag oder eine intensiv blaue Färbung, die vom Berlinerblau herrührt). Es versteht sich von selbst, daß die Reagentien absolut rein waren und daß die Behälter, in denen die Reaktionen gemacht wurden, auf obengenannte Weise von organischen Stoffen befreit worden waren.

5) Ich stellte die Analysen mit 15-, 30- und 60-tägigen Kulturen an.

6) Zur Kontrolle züchtete ich dieselben Mikroorganismen auf Lösungen von Glycosium, dem Ammoniumsalz (Tartrat oder Phosphat) in verschiedener Menge beigemengt war.

Mikroorganismen. Ich stellte meine Untersuchungen zuerst an einer, dann an gepaarten Kulturen von Hyphomyceten, Saccharomyceten und Oidien an; verschiedene von den letzten beiden isolierte ich von der Umgebung; die ersten bezeichne ich mit römischen Ziffern, die zweiten mit Buchstaben.

Folgende Arten habe ich untersucht:

1) Aspergillus niger,
2) Penicillium glaucum,
3) Saccharomyces ellipsoideus,
4) " Rivoltae,
5) " I,

6) Saccharomyces II,
7) " III,
8) " IV,
9) Oidium a,
10) " b,
11) " c,
12) " d,
13) " e,
14) " f.
15) Ich dehnte überdies meine Untersuchungen auch auf die Mikroorganismen der Luft, des Wassers und der Erde aus, welche ich dadurch sammelte, daß ich in einem Glase Wasser, Erde, Mist und Früchteinfusorien verschiedener Herkunft zusammenmengte und die Flaschen mit 1 Tropfen davon impfte.

Kulturen bei Gegenwart oder Abwesenheit von atmosphärischem Stickstoff. Die Kulturen, die sich bei Gegenwart des atmosphärischen Stickstoffes entwickeln sollten, wurden mit dem gewöhnlichen Wattepfropfen abgeschlossen; die anderen Flaschen, die frei von diesem Gase aufbewahrt werden sollten, behandelte ich folgendermaßen: Ich füllte sie bis zur Oeffnung mit der Kulturflüssigkeit (einer Lösung von Saccharosium), verschloß sie mit einem Kautschukpfropfen, der durchbohrt war, und ließ sie 1 Stunde lang über einer Flamme kochen, füllte nachher die Flasche wiederum bis zur Mündung mit derselben siedenden Flüssigkeit, die in einem anderen Behälter kochte, und schloß die Oeffnung des Pfropfens mit einem gläsernen Stäbchen. Auf diese Art wurde die Luft gänzlich vertrieben. Nachdem das Ganze kalt geworden war, impfte ich rasch durch die Pfropfenöffnung den Inhalt und verschloß die Flasche sogleich wieder.

Analytische Methoden. Aus den Kulturen gewann ich das zu analysierende Material auf zweierlei Art: a) indem ich das Mycelium aus 10—20 Liter Kultur mit einem reinen Glasstäbchen in auf obengenannte Weise chemisch reine Probiergläschen übertrug und es im Ofen bei 110° C trocknete; b) indem ich die, das Mycelium (Blastomyceten) enthaltende, oder deren freie Kulturen bei 50° C ausdunsten ließ, 10—20 Liter davon auf $^1/_2$ Liter reduzierte, sie dann mit Phosphorwolfram- und Salzsäure fällte, sie filtrierte, mit einer Lösung HCl wusch, bis die Phosphorwolframsäure vollständig entfernt war, und sie endlich wie oben trocknete.

Das trockene Material wurde dann nach der oben beschriebenen Methode von Lassaigne analysiert.

Mikroskopische Untersuchung der Kulturen. Neben der chemischen Analyse untersuchte ich die Kulturen auch mikroskopisch, indem ich diejenigen, die auf stickstoffhaltigem mit denen, die auf einem stickstofffreien Nährboden gewachsen waren, verglich. Auf diese Art konnte ich die eventuellen Verschiedenheiten in der Form und Färbbarkeit gut hervortreten lassen.

Der Kürze wegen unterlasse ich es, die Resultate anzugeben, die ich bei stickstofffreien Kulturen erzielte, weil sie den oben aufgestellten ganz gleich waren. Wie zu erwarten war, gab die Analyse nie Spuren von Stickstoff an.

Resultate. Man ersieht aus der umstehenden Tabelle, daß die Saccharomyceten, die Oidien, die Hyphomyceten und alle jene Mikroorganismen der Umgebung, die auf reinem Saccharosium gedeihen, sich ebenda entwickeln, Invertin produzieren (wie wir später sehen werden), aber keinen Stickstoff aufweisen, dieses Element aber immer enthalten, wenn sie auf Ammoniumsalz gezüchtet werden.

B. Enzyme.

Ich beschränkte meine Untersuchungen auf das Invertin und das proteolytische Enzym, weil aus meinen vorhergehenden Untersuchungen[1]) hervorgeht, daß das diastatische und das koagulierende Enzym nicht auf eiweißfreien Nährböden entsteht.

Untersuchungsmethode.

a) Invertin. Ich gebrauchte zu diesem Zwecke Kulturen, die sich auf 3-proz. Saccharosium- und 5-proz. Glycerinlösung, die nach der oben genannten Methode zubereitet worden waren, entwickelten. Ich versicherte mich nach 15—30—60 Tagen, ob das Enzym in genügender Menge gebildet war, filtrierte nachher alle Kulturen durch den Chamberland'schen Filter und ließ das Filtrat bei 50° C ausdunsten; den trockenen Rest untersuchte ich auf seinen Gehalt an Stickstoff auf die gewohnte Art (Methode Lassaigne).

Mikroorganismen. Um das auf Saccharosium gebildete Invertin zu sammeln, bediente ich mich aller obengenannten Kulturen; um aber dasselbe Enzym, das sich auf Glycerin gebildet, zu gewinnen, gebrauchte ich nur den Aspergillus niger, weil, wie ich gezeigt, dieser der einzige ist, der auf diesem Nährboden ein genügendes Quantum Invertin bildet.

Resultat. Die Analyse ergab keine Spuren von Stickstoff im Enzym des Saccharomyces-, Oidium- oder Hyphomyceten-Invertins.

b) Proteolytisches Enzym. Da ich aus früheren Untersuchungen erfahren hatte, daß einige Mikroorganismen (B. prodigiosus und B. pyocyaneus) in Ammoniumsalz- und Saccharosiumlösungen kein Enzym bilden, während sie es in Lösungen derselben Salze mit Glycerin in genügender Menge ausscheiden, so bediente ich mich zu diesen Untersuchungen nur Kulturen von reinem 5-prozentigen Glycerin.

Untersuchungsmethode ist dieselbe, die ich schon früher beschrieben.

Mikroorganismen. Es giebt sehr wenige Mikroben, die auf Glycerin gedeihen, und von diesen fand ich (im Verein mit Montesano) nur einen einzigen, den B. fluorescens, der ein proteolytisches Enzym bildet.

Resultat. Die Analyse ergab, daß im isolierten proteolytischen Enzym keine Spuren von Stickstoff enthalten waren.

---

1) Claudio Fermi, Weitere Untersuchungen über die tryptischen Enzyme der Mikroorganismen etc. (loc. cit.)

Tabelle der angestellten

Name der Mikroorganismen	Alter der Kulturen: auf Saccharosium	Alter der Kulturen: auf Saccharosium- u. Ammonium-salze	Menge des gebrauchten Materials: Saccharosium-Lösung	Menge des gebrauchten Materials: Saccharosium- und Ammonium-salzlösung
	Tage	Tage	Liter	Liter
Aspergillus niger	15 31 62	15 31 62	10 10 10	2 2 2
Penicillium glaucum	15 30 60	15 30 60	9 12 10	2 2 2
Blastomyces I und Saccharomyces ellipsoideus	30 30 60	30 30 60	10 9 11	4 3 3
Blastomyces II, Saccharomyces Rivoltae (Fermi und Aruch)	30 60	30 60	8 10	4 3
Blastomyces III und IV	15 33	15 33	7 11	4 3
Oidium a und b	17 31	17 31	8 10	4 3
Oidium c und d	14 36	14 36	7 9	4 3
Oidium e und f	16 30	16 30	10 9	4 3
Mikroorganismen der Luft, des Wassers, der Erde, der vegetabilischen Oberfläche etc.	18 29 35	18 29 35	9 9 10	 4 3

Untersuchungen.

Menge des trockenen analysierten Materials: auf Saccharosium	Menge des trockenen analysierten Materials: auf Saccharosium- u. Ammonium-salze	Prüfung auf N. nach d. Methode v. Lassaigne: auf Saccharosium-kulturen	Prüfung auf N. nach d. Methode v. Lassaigne: auf Saccharosium- u. Ammonium-salzkulturen	Mikroskopische Untersuchung der Kulturen: auf Saccharosium	Mikroskopische Untersuchung der Kulturen: auf Saccharosium und Ammoniumsalze
g	g	keine	klar		
0,42	0,51	"	"	Keine Sporen. Feines Mycelium, viele Vakuolen, ungleichmäßige Färbung	Viele Sporen. Größerer Kern mit weniger Vakuolen, leichter färbbar
0,63	5,8	"	"		
0,93	8,7	"	"		
0,5	0,6	"	"	Wie beim Aspergillus niger	
0,76	0,68	"	"		
0,81	0,93	"	"		
0,76	0,30	"	"	Besonders die Zellen des ellipsoideus sind oft größer, mit mehr homogenem und hyalinen Inhalt	Regelmäßige Formen
0,5	0,61	"	"		
0,76	0,72	"	"		
0,5	0,47	"	"	Meistens regelmäßige Formen; viele Zellen mit wenig glänzendem hyalinen Inhalt	Regelmäßige Formen
0,61	0,58	"	"		
0,5	0,51	"	"	Wurde nicht gemacht	
0,7	0,68	"	"		
0,4	0,5	"	"		
0,7	0,68	"	"		
0,5	0,4	"	"	Viel dünnere Fäden, mit mehr Vakuolen, weniger klarer Membran u. weniger glänzenden Körnern; manchmal jene hyaline Färbung, die in den Blastomyceten beobachtet wurde.	Regelmäßige Formen
0,73	0,69	"	"		
0,34	0,4	"	"	Wie bei den Oidien D und F	
0,58	0,55	"	"		
0,47				Ich fand lange u. dünne Bacillen und manche Kokkenbakterien, viele Oidien u. Blastomyceten mit fein granuliertem Inhalt	Sehr verschiedenartige Formen
0,7	0,6	"	"		
0,9	0,8	"	"		

Ergebnisse. I. Ich fand unter den vielen von mir studierten Mikroorganismen keinen einzigen von den auf 5-proz. reinen Saccharosium kultivierbaren, der den atmosphärischen Stickstoff bindet. Darin stimmen meine Untersuchungen mit denen Winogradsky's überein.

II. Es existieren Mikroorganismen, die besonders den Saccharomyceten, den Oidien und Hyphomyceten angehören, welche auf stickstofffreien Nährböden kultiviert, gänzlich gegen die empfindlichste Stickstoffreaktion von Lassaigne sich stickstofffrei zeigen. Bestehen diese Mikroorganismen ausschließlich aus ternären Verbindungen?

III. Einige auf stickstofffreien Nährböden entwickelte Mikroorganismen können ein Proteolin und Invertin bilden.

IV. Das Invertin und das proteolytische Enzym zeigten sich ebenfalls als stickstofffreie Körper. Es ist möglich, daß, wie die Zusammensetzung des Protoplasmas wechselt, auch jene der Enzyme variiert.

V. Das Leben ist möglich auf Substraten, in denen man mit den empfindlichsten Methoden weder Stickstoff noch mineralische Salze nachweisen kann.

Rom, 25. Juni 1896.

Aufbewahrung von Nährmedien und Kulturen.

Von

Dr. H. Elion

in

Rotterdam.

Während für das Arbeiten mit Mikroorganismen die verschiedensten Apparate zur Verwendung kommen und die Form derselben größtenteils durch die Art der Untersuchung bestimmt wird, kommt es bei der Aufbewahrung darauf an, möglichst einfache Gefäße zu verwenden, welche in beliebiger Anzahl leicht zu beschaffen sind, dabei genügende Sicherheit gegen Infektion gewähren und leichte Entnahme von Proben ermöglichen. Kulturen auf festem Nährboden werden dementsprechend gewöhnlich im Reagiercylinder mit Wattepfropf aufbewahrt, dagegen sind auffallenderweise für Kulturen in Flüssigkeiten, besonders Hefe, noch vielfach Pasteur'sche Kolben im Gebrauch. Obgleich nun diese Kolben für gewisse Manipulationen recht nützlich sind, eignen sie sich doch weniger für den obengenannten Zweck.

Die einfachste Art der Aufbewahrung wäre ein gewöhnliches Kölbchen mit Watteverschluß, welches auch bei vielen Untersuchungen

benutzt werden kann. Die Schattenseite dieser Methode ist bekanntlich die, daß der Verschluß keine Sicherheit gegen das Eindringen von Schimmel gewährt [1]), und besonders beim Aufbewahren von Flüssigkeiten scheint dieser Uebelstand auch in trockenen Räumen empfindlich hervorzutreten. Man hat daher vorgeschlagen, über dem Watteverschluß eine doppelte Lage Filtrierpapier oder Leinwand mit Bindfaden oder Gummiring festzubinden, damit sich auf der Watte nicht unmittelbar keimhaltiger Staub ansetzen kann [2]). Dieses Verfahren ist aber ziemlich zeitraubend und gewährt auch nicht die verlangte Sicherheit.

Ein geeignetes Mittel, um dem Eindringen von Schimmel vorzubeugen, besteht nun darin, daß man über den Wattepfropf eine Kappe in Form eines sehr kurzen Reagiercylinders hängt [3]). Seit mehreren Jahren habe ich diese recht einfache Methode angewandt, und diese hat sich während dieser Zeit völlig bewährt. Auch nicht ein einziges Mal ist es dabei vorgekommen, daß Schimmel in die Kulturen oder Nährmedien eindrang, während dies ohne Kappe gewöhnlich nach kürzerer oder längerer Zeit der Fall war. Der Verschluß eignet sich für Gefäße von sehr verschiedenen Dimensionen und findet z. B. regelmäßig Verwendung bei Kolben und Flaschen, welche bis 5 l sterilisierter Würze enthalten.

Während des Sterilisierens, welches zweckmäßig mittels Dampfes geschieht, sind die Pfropfen durch die Kappen vor niederfallenden Wassertropfen geschützt, und die Pfropfen bleiben auch später, falls nicht zu viel damit manipuliert wird, derartig sauber, daß ein vorheriges Abbrennen beim Ueberimpfen unterlassen werden kann. Auch ist es von Vorteil, daß die Verdampfung in so hergerichteten Kolben nur in geringem Maße stattfindet, infolgedessen die Kulturen ohne weitere Fürsorge während mehrerer Jahre aufbewahrt werden können.

Laboratorium der Heineken Brauereigesellschaft, Juli 1896.

1) Hueppe, Methoden der Bakterienforschung. 3. Aufl. p. 116.

2) Ibid. 4. Aufl. p. 170.

3) Die aus Glas hergestellten Kappen werden von C. Desaga in Heidelberg in guter Ausführung in nachfolgenden Dimensionen geliefert:

Durchmesser mm	20	30	35	40	45	55
Höhe „	50	60	65	65	70	80

Zusammenfassende Uebersichten.

Die Beziehungen der Mikroorganismen zum Tabakbau und zur Tabakfabrikation.

Sammelreferat

von

Dr. J. Behrens

in

Karlsruhe.

Eine Zusammenstellung der Pilze, welche auf Tabakblättern und anderen Organen der Tabakpflanze gefunden sind und z. T. Krankheiten darauf erzeugen, hat schon de Toni (3) (vgl. auch 2) im Jahre 1892 gegeben. Indem ich im übrigen auf dessen ausführliche Publikationen verweise, stelle ich im Folgenden die Pilze, welche er aufführt, kurz zusammen. Es sind das:

Laestadia Marii (de Not.) Sacc., auf Stengeln in Norditalien und der Schweiz gefunden.

Phyllosticta Tabaci Pass., erzeugte weiße Flecken auf Tabakblättern bei Parma und auf Sizilien.

Phyllosticta capsulicola Sacc. et Speg., auf Fruchtkapseln des Tabaks zu Conegliano gefunden.

Ascochyta Nicotinae Pass., auf dürren Flecken der Blätter bei Parma gefunden.

Oidium Tabaci Thüm., auf lebenden Tabakblättern in Portugal, in der Türkei und in Italien gefunden.

Macrosporium commune Rabenh. sowie

Epicoccum purpurascens Ehr., dürften wohl nur auf toten Blättern sich ansiedeln. Ebenso

Macrosporium tabacinum Ell. et Everh. und

Macrosp. longipes Ell. et Everh., beide in Nordamerika auf Tabakblättern entdeckt.

Penicillium crustaceum Link sowie

Aspergillus glaucus Link sind häufige Erscheinungen auf den Blättern in den Tabakmagazinen, wo sie aufbewahrt werden.

Botrytis vulgaris Fr. wurde von de Toni auf Tabakblättern im botanischen Garten zu Padua gefunden; ihr Vorkommen auf Tabakstengeln ist schon von Münter (1) beschrieben. Wir kommen übrigens auf diesen Pilz später noch zurück.

Peronospora hyoscyami de Bary fand Farlow auf Blättern von Nicotiana glauca in Kalifornien. In Australien ist sie ganz neuerdings als nicht ungefährlicher Schädling aufgetreten [W. C. C. (1) und W. G. S. (1)]. Vielleicht ist damit identisch die

Peronospora Nicotianae Speg., welche auf südamerikanischem Tabak vom Autor gefunden wurde.

Ueber die Mosaikkrankheit des Tabaks, welche in einigen Gegenden der Niederlande, aber auch in Deutschland auftritt und gewiß weiter verbreitet ist, hat Ad. Mayer (1) schon im Jahre 1886 eingehendere Untersuchungen angestellt. Die Erkrankung äußert sich im Auftreten einer mosaikartigen Zeichnung auf den Blättern, hervorgerufen dadurch, daß einzelne Particen derselben dunkler, andere heller grün werden. Die letzteren bleiben auch dünner und sterben schließlich ab; die Blätter kräuseln sich und sind schon deswegen zur Fabrikation unbrauchbar. Die Ursache der Krankheit wurde in zweifelloser Weise nicht festgestellt. Aus dem Umstande, daß die Krankheit eine ansteckende ist, daß der Preßsaft kranker Blätter, in die dickeren Blattnerven eines Blattes von ganz gesunden Pflanzen geimpft, bei letzteren, und zwar an den jungen Blättern, die Krankheit hervorruft, und daß der Saft durch mehrstündiges Erhitzen auf 80° C, durch Behandlung mit absolutem Alkohol, sowie durch Filtration durch mehrere Lagen von Filtrierpapier seine Infektionstüchtigkeit verlor, nicht aber beim Filtrieren durch ein einfaches Filter, schließt Mayer, daß es sich um ein organisiertes Krankheitsferment, und zwar um Bakterien handeln müsse; denn Pilzsporen würden schon durch eine einfache Lage Filtrierpapier zurückgehalten werden. Die Bakterien, welche aus dem Tabaksafte isoliert wurden, erwiesen sich übrigens bei den Infektionsversuchen als unfähig, die Krankheit zu erzeugen. Eine spätere Mitteilung (2) berichtet über die günstige Wirkung, welche die von einem Tabakpflanzer bei einem Teile seiner Sämlingskästen ausgeführte Erneuerung der Mistbeeterde auf das Auftreten der Krankheit gehabt hat. Während unter den Pflanzen aus den unveränderten alten Beeten 25 Proz. erkrankt sind, war unter den dicht danebenstehenden, aus den erneuerten Beeten stammenden Pflanzen kaum eine kranke zu finden.

Schon Migula (1) hat darauf hingewiesen, daß die bakteriose Natur der Erkrankung durch die Untersuchungen Ad. Mayer's nichts weniger als bewiesen ist, selbst wenn man als dadurch festgestellt ansieht, daß die Krankheit parasitärer Natur ist. Auch die Ergebnisse der Untersuchungen von Prillieux und Delacroix (1), die in den Flecken mosaikkranker Tabakblätter sporenbildende Bakterien antrafen, genügen bei dem Mangel gelungener Infektionsversuche nicht, um die Mosaikkrankheit als eine Bakteriosis zu charakterisieren.

Eine Krankheit der Setzlinge, den sog. „Schwamm", faßt Behrens (2) auf als verursacht durch den überall gemeinen Fäulnisbewohner *Alternaria tenuis* Nees. von Esenb., der unter günstigen Verhältnissen, bei Mangel an Licht und zu großer Luftfeuchtigkeit, imstande ist, die jungen Keimlinge derart zu überwuchern und zu umspinnen, daß sie Not leiden, absterben und endlich unter Beteiligung anderer saprophytischer Pilze und Bakterien vollständig zersetzt werden. Comes (1) betrachtet die gleiche oder wenigstens eine sehr ähnliche Krankheit als hervorgerufen durch das Absterben und die Fäulnis der Wurzeln unter dem Einflusse des „*Bacillus Amylobacter*" in allzu wasserreichem und festem Boden. Reinkulturen und Infektionsversuche sind jedoch nicht angestellt.

Neuerdings hat Breda de Haan in zwei Mitteilungen (1, 2) die Bibitziekte oder Setzlingskrankheit des Tabaks auf Deli eingehend behandelt, entsprechend der großen Gefahr, mit welcher diese Krankheit den Tabakbau Delis bedrohte. Er weist nach, daß sie hervorgerufen wird durch eine Phytophthora, die er, zunächst provisorisch, als Ph. Nicotianae nov. spec. bezeichnet. Zugleich fand er auch die Mittel auf, die Krankheit zu bekämpfen und in erträglichen Schranken zu halten; sie bestehen teils in einer Aenderung der bisher üblichen Maßregeln bei der Erziehung der Setzlinge, die trockener zu halten sind und denen mehr Licht zu teil werden muß, als das bisher der Fall war, teils in der Anwendung der bei den Peronosporeen ja so vielfach bewährten kupferhaltigen Flüssigkeiten, speziell der Kupferkalkmischung.

Von weiteren Krankheiten und Schädigungen, durch Bakterien oder Pilze hervorgerufen, erwähnt Breda de Haan am Schlusse der ersten Mitteilung (1) noch folgende als auf Sumatra auftretend:

1) den sog. Rost, Blattflecken, in denen Bakterien gefunden wurden;

2) „Spikkel", eine Pilzkrankheit;

3) eine der vorigen ähnliche, aber durch einen anderen Pilzparasiten hervorgerufene Blattfleckenkrankheit;

4) eine durch Bakterien verursachte Fäule des Markes der Stengel, deren Blätter dann frühzeitig gelb werden und abfallen, vielleicht ähnlich oder identisch mit einer als „Narrenbildung" bezeichneten Erkrankungsform, die Ref. einmal kennen zu lernen Gelegenheit hatte (vgl. Klein, Fünfter Bericht u. s. f. [1]);

5) damit vielleicht zusammenhängend, das Faulen der Blattstiele auf dem Lager;

6) Schimmel in den Trockenräumen, bei feuchtem Wetter auf dem trocknenden Tabake auftretend;

7) eine der Mosaikkrankheit ähnelnde, vielleicht mit ihr identische Marmorierung der Blätter.

Der reife Tabak wird, wie bekannt, am besten in besonderen Räumen langsam und unter besonderen Kautelen getrocknet und so dem Stadium der Dachreife entgegengeführt. Bei uns werden im allgemeinen die Blätter allein geerntet, auf Schnüre gereiht, die durch die Basis der Rippe gezogen werden, und so aufgehängt. In Amerika, sowie in vielen tropischen Produktionsgebieten wird die ganze Pflanze über der Wurzel abgeschnitten und dann verkehrt im Trockenraume aufgehängt. In jedem Falle leben die Blätter noch längere Zeit während des Hängens am Dache fort, und dementsprechend gehen in ihnen noch Stoffwechselprozesse vor sich, deren regelmäßiger Verlauf und volle Durchführung zur Erreichung eines genügend dachreifen, qualitätsvollen Produktes notwendig sind. Es verschwindet die Stärke, die größtenteils veratmet wird; ein Teil der Eiweißstoffe wird zersetzt, und der Gehalt an Amiden steigt etc. Außerdem wird die ursprünglich grüne Farbe in ein mehr oder weniger tiefes Braun verwandelt.

Vielfach wird der Tabak, bevor er zum Trocknen aufgehängt wird, noch einer vorbereitenden Behandlung, dem sog. „Schwitzen-

lassen", unterworfen [1]). Die etwas abgewelkten Blätter setzt man zu Haufen oder Bänken aufeinander, worauf bald eine Art Gärung eintritt, kenntlich an der Temperaturerhöhung und dem Auftreten eines eigentümlichen Geruches (Neßler 1). Der Tabak soll dadurch mehr Reife erlangen und besser trocknen. Jedoch liegt die Gefahr nahe, daß er zu heiß wird und verbrüht, schwarz wird. (Vgl. Müller-Thurgau 1.)

Die Temperaturerhöhung beruht, wie die Untersuchungen von Behrens (5) gelehrt haben, wenigstens in den ersten Stadien, nicht auf einem eigentlichen Gärungsvorgange, der durch Mikroorganismen hervorgebracht wäre, sondern auf der Atmung der lebenden Blätter. Bei längerer Dauer des Schwitzenlassens und ungenügender Ueberwachung des Prozesses liegt die Gefahr nahe, daß die Blätter, wahrscheinlich durch die massenhaft entwickelte Kohlensäure, Not leiden, und daß jetzt sich Mikroorganismen auf ihnen entwickeln und sie zerstören. Diese Gefahr besteht natürlich ebenso, wenn die Blätter, auf Wagen aufgeschichtet, längere Zeit zum Transporte vom Felde zum Trockenraume gebrauchen. Bei Versuchen im Kleinen stieg die Temperatur nie so hoch, daß dadurch allein die Blätter hätten getötet werden können. Das bei den Versuchen beobachtete Temperaturmaximum war 36° C. Da sie doch abstarben, so müssen andere Ursachen daran schuld sein, und zwar wahrscheinlich, wie schon oben erwähnt, die Kohlensäureanhäufung, da die auftretenden Mikroorganismen, Bakterien der verschiedensten Art, bei speziell darauf gerichteten Infektionsversuchen nicht imstande waren, gesunde, grüne Tabakblätter anzugreifen. Diese Bakterien sind aërob und verwandeln die Blätter unter Mazerierung der Gewebe in eine faulige, halbflüssige Jauche, die überaus reich ist an kohlensaurem Ammoniak. Der Bacillus subtilis, der nach Cohn bei der Selbsterhitzung von Gras und feuchtem Heu wesentlich beteiligt ist, spielt in unserem Falle keine Rolle.

Während des Schwitzenlassens verschwindet die Stärke aus den Blättern, indem sie zum Teil veratmet wird, zum Teil in Zucker übergeht. Der genannte Prozeß bewirkt also ähnliche Veränderungen, führt sie nur schneller und ohne Wasserverlust herbei, wie sie das Trocknen des Tabaks am Dache zum Zwecke hat. Er erscheint also, wenn gut geleitet, als eine ganz rationelle Maßregel. Inwiefern das Schwitzenlassen auf das Aroma wirkt, muß dahingestellt bleiben.

Bei der Erlangung der Dachreife spielen Mikroorganismen keine Rolle. Was Tscherbatscheff (1) als Gären bezeichnet, ist in Wirklichkeit kein Gärungsprozeß, sondern der Beginn, die erste Periode des Trocknens. Wo Organismen auftreten, sind sie entweder gleichgiltig, oder aber sie entfalten eine Thätigkeit, welche der Qualität des Blattes nur zum Schaden gereichen kann. Auf die großen Verluste, welche das Schimmeln des Tabaks am Dache hervorruft, hat

---

1) Es geschieht das z. B. auch in Usambara, wie Warburg berichtet: „Die von den Mittelrippen befreiten Blätter werden für längere Zeit in die Hütten gelegt und mit Bananenblättern bedeckt; das ist die hier gebräuchliche Art der Fermentation; haben sie die gehörige Reife erlangt, so trocknet man sie an der Sonne . . . ." (O. Warburg, Die Kulturpflanzen Usambaras. Mitteilungen aus den deutschen Schutzgebieten. (Bd. VII, 1894. Heft 2. p. 56 des Sonderabdrucks.)

zunächst Neßler wiederholt (2, 3, 4) hingewiesen, ohne sich mit der Bestimmung der auftretenden Pilzarten zu beschäftigen, und insbesondere auf die Maßregeln aufmerksam gemacht, mit Hilfe welcher man imstande ist, dieser Erscheinung mit Aussicht auf Erfolg entgegenzutreten. Man soll die Mittelrippen, welche am langsamsten trocknen, der Länge nach aufschlitzen, um ihr Austrocknen zu beschleunigen; ferner soll man die besonders dickrippigen Blätter für sich fassen und zum Trocknen aufhängen; endlich soll man nicht zu dicht hängen und den Zutritt von Luft und Wärme, der Witterung entsprechend, zu regeln suchen; schließlich fordert er zu Versuchen über das Räuchern des Tabaks auf.

Müller-Thurgau (1) führt das als „Dachbrand“ bezeichnete Verderben der Blätter auf Pilze zurück, die er regelmäßig auf dachbrandigen Blättern vorfand, und die der Gattung Pleospora nahe stehen.

Sturgis beschäftigte sich näher mit den Erscheinungen des Verderbens der trocknenden Tabakernte und untersuchte zwei Formen desselben näher. Die eine (1), der sog. „pole-burn“, wohl mit unserem Dachbrande identisch oder doch diesem nahestehend, äußert sich im Auftreten dunkler bis schwarzer, wie verbrannt aussehender Flecken auf den Blättern; bei genügender Feuchtigkeit wachsen dieselben und nehmen endlich die ganze Blattfläche ein, wobei das Blatt weich und naß wird und bei der Berührung zerreißt. Es ist also eine Fäulnis der Blätter, die nur bei genügender Luftfeuchtigkeit aufzutreten und Verheerungen anzurichten imstande ist. Nach Sturgis soll diese Fäulnis verursacht werden durch Bakterien, welche sich auf dem Blatte ansiedeln, und zwar fanden sich stets zwei verschiedene Formen vergesellschaftet, ein Stäbchenbakterium ($1{,}9-3{,}7 \times 0{,}8\ \mu$) und ein Micrococcus ($0{,}9-1{,}4\ \mu$). Die genaue Beobachtung gesunder, trocknender Blätter, die in einen dampfgesättigten Raum gebracht wurden, ergab folgenden Verlauf der Krankheit: Zunächst entwickeln sich auf den Blättern stellenweise kleine, braune Flecke, hervorgebracht durch ein Cladosporium. Nach einigen Wochen starb dieser Pilz, der sich nicht weiter verbreitete, ab, und an seiner Stelle traten die erwähnten Bakterien auf. Der Verf. schreibt demnach den „pole-burn“ in erster Linie der Ansiedelung des Fadenpilzes zu, der die Blattzellen stellenweise isoliert und zum Teil zerstört, und so den Fäulnisbakterien den Eintritt in das Gewebe ermöglicht. Erst dadurch wird das an sich unschädliche Cladosporium schädlich. Die Gegenmittel ergeben sich von selbst durch die Erfahrung, daß in trockener Luft die Krankheit nicht auftritt. Event. ist Beschleunigung des Trocknens durch künstliche Wärme angezeigt.

Eine zweite Krankheit, die Sturgis (2) untersuchte, ist die Stammfäule (Stem-rot), die an den Stengeln der zum Trocknen aufgehängten ganzen Pflanzen auftritt. Zunächst treten rein weiße, sammetartige Rasen auf den Stengeln auf, die auf die Blattrippen übergreifen und aus dem Mycel einer Botrytis bestehen, die Verf. mit der Botrytis longibrachiata Oudem. identifiziert. Der Pilz zerstört das Gewebe und schädigt die Blätter insbesondere, in-

dem er die Rippen und die angrenzenden Teile der Blattfläche maceriert und in Fäulnis überführt.

Damit nähert sich die letzt erwähnte Schädigung der Tabakblätter derjenigen, welche Behrens (3) näher untersucht und beschrieben hat. Die als Rippenfäule sowohl wie die als Dachbrand in deutschen Tabakbaugebieten, zunächst in Baden bezeichneten Schädigungen sind danach Fäulniserscheinungsn der Rippe oder des Blattes, hervorgerufen entweder durch Sclerotinia Libertiana oder durch Botrytis cinerea, welche beide in ganz gleicher Weise wirken. Insbesondere ist das seidenähnliche, weiße Mycel der ersteren auf den Rippen eine überaus häufige Erscheinung und wird vielfach, wenn nur in geringer Menge und ohne weiteren Schaden vorhanden, sogar als ein gutes Zeichen sorgfältiger Behandlung und Trocknung nicht ungern gesehen, eine nicht ganz unberechtigte Anschauung. Beide Pilze bilden, wenn stärker entwickelt, auf den Blättern auch ihre Sklerotien, von denen die von Sclerotinia Libertiana stets frei im Mycel liegen und sich leicht loslösen lassen, während die von Botrytis mit der Epidermis der Rippen resp. mit der Blattfläche schwielenartig oder krustenförmig verwachsen sind. Wie schon seit den Untersuchungen de Bary's über den ersteren, Kißling's und Marshall Waid's über den letzteren Pilz bekannt, scheiden beide ein Ferment aus, das nicht nur vergiftend auf lebende Zellen wirkt, sondern auch Mittellamellen und vielleicht sogar manche ganze Membranen zum Aufquellen und in Lösung zu bringen vermag. Infolge dieser Thätigkeit, welche beide Pilze natürlich auch auf dem Tabakblatte entfalten, wird das Gewebe des letzteren matschig und verliert seinen Zusammenhang. Außerdem bilden beide Schädiger viel oxalsauren Kalk, dagegen kein Ammoniak. Von der Botrytis cinerea ist die von Sturgis als Ursache des Stem-rot gefundene Botrytis übrigens sicher verschieden. Bakterien sind bei den Fällen der Rippenfäule und des Dachbrandes, die dem Ref. zu Gesichte kamen, sicherlich nicht beteiligt, wenn natürlich die Möglichkeit einer Bakterienfäulnis auch nichts weniger als geleugnet werden soll.

Kurz sei hier noch darauf hingewiesen, daß Breda de Haan (1) einen in den Trockenräumen auftretenden Schimmel sowie ein Faulen der Blattrippen unter dem Einflusse von Bakterien kurz erwähnt. Auch die Phytophthora Nicotianae kann nach ihm (2) auch noch in den Tabaktrockenräumen indirekt dadurch sehr schädlich werden, daß sie die Stengel vorzeitig tötet und dadurch der Besiedelung durch Saprophyten zugänglich macht, die dann aufs Blatt übergreifen.

Von anderen Pilzen wurden auf am Dache hängenden Blättern Cladosporium und Alternaria, jedoch ohne ersichtliche Schädigung der Qualität, gefunden. Miciol (1) erwähnt die Perithecien von Pleospora Doliolum Tul. und Depazea-ähnliche Pykniden als Vorkommen auf dachreifen Blättern. Auch sie scheinen dem Handelswerte der Blätter nicht geschadet zu haben. Dagegen sind Penicillium glaucum Link und ganz besonders Aspergillus glaucus Link, deren Vorkommen auf fabrikationsfähigem Tabak auch de Toni (2, 3) angiebt, nach Beobachtungen von Behrens (5)

sehr häufige und nicht unbedenkliche Bewohner des dachreifen Tabaks. Sie bewirken nicht nur eine sehr schädliche Lockerung der Textur des Blattes und schädigen das Aussehen desselben ganz erheblich, sondern es ist auch zu fürchten, daß sie auf Geschmack und Aroma des Krautes einen nichts weniger als günstigen Einfluß ausüben.

Nachdem das Tabakblatt allen diesen Gefahren entgangen ist und gesund den Zustand der Dachreife erreicht hat, tritt beim Abhängen vor dem Verkaufe von neuem die Gefahr des Faulens und Schimmelns an dasselbe heran. Um mechanische Verletzungen der trockenen, spröden Blätter beim Abhängen zu verhüten, läßt man sie vielfach vorher durch Sprengen des Bodens u. s. f. Wasser anziehen, und es ist klar, daß dadurch in Verbindung mit der dichteren Packung oder Lagerung die Gefahr des Verderbens wieder nahe gerückt ist.

Wenn der dachreife Tabak in die Hände des Fabrikanten oder Händlers übergegangen ist, so wird er der sog. Fermentation unterworfen, einem Gärungsprozesse, der dadurch eingeleitet wird, daß man die Tabakbüschel in große Haufen, Stöcke, deren jeder viele hundert Centner faßt, zusammensetzt, worauf sich die Masse erwärmt. Daß diese Selbsterwärmung auf der Lebensthätigkeit von irgend welchen Gärungsorganismen beruht, hat man schon früher mehr geahnt als bestimmt gewußt. Schon Hermbstädt identifiziert in seinem vorzüglichen Werke, einem der besten, das über das Gesamtgebiet des Tabakbaus und der Tabakfabrikation geschrieben ist (1), Fermentation direkt mit Gärung. Ebenso war sich Neßler (1) wohl bewußt, daß die Fermentation ein Gärungsvorgang ist.

Die im Innern der Tabakstöcke vor sich gehende Temperaturerhöhung ist natürlich nach den Verhältnissen sehr verschieden. Je mehr die Wärmeabgabe nach außen vermieden ist, um so höher wird bis zu einem gewissen Grade die Temperatur im Innern der Stöcke sein. Deshalb werden größere Haufen sich leichter und höher erwärmen als kleinere Massen von Tabak. Daß zum Eintritte der Gärung ein gewisser Feuchtigkeitsgrad des Tabaks und ein gewisser Wärmegrad der Luft des Gärungsraumes notwendig ist, erscheint selbstverständlich. In den Verhältnissen der Praxis maß Neßler (1) im Innern der Stöcke eine Maximaltemperatur von 57,5° C, Suchsland (2) eine solche von 61° C. Höher als bis ca. 50° C läßt man die Temperatur im allgemeinen nicht steigen; man nimmt dann die Stöcke auseinander und baut neue auf, setzt sie um, wobei man die Vorsicht beobachtet, jetzt die vorher äußeren Blätter ins Innere des Stockes hineinzupacken, um sie ebenfalls kräftig zu fermentieren. Das Umsetzen wiederholt man, bis das ganze Material genügend fermentiert erscheint.

Ueber den Zweck, den man mit der Fermentation verfolgt, weiß man bis heute nichts Genügendes, und besonders nichts Exaktes, Greifbares. Jedenfalls veredelt die Fermentation Aussehen und Aroma des Tabaks, macht denselben vielleicht auch erst aufbewahrungs- und transportfähig.

Hermbstädt (1) giebt als Wirkung der Fermentation nur einen Substanzverlust an, der 15 bis 23 Proz. betragen kann. Fries (1) beziffert den Substanzverlust auf 8—10 Proz. In beiden Fällen ist

aber ganz zweifelllos der Verlust an Trockensubstanz, den die Atmungs- und Gärungstätigkeit der Gärungsorganismen zur Folge haben muß, nicht unterschieden von dem Verluste an Feuchtigkeit, den fermentierender Tabak infolge der in ihm vorhandenen Hitze erleidet, welche einen Teil des Imbibitionswassers zur Verdampfung bringt. Neßler (1) führt als durch die Fermentation erzielte chemische Umsetzungen im Tabak auf: das Verschwinden des Chlorophylls, eine Abnahme des Nikotingehalts, und endlich die Bildung von Ammoniak, welche jedoch nur unter ganz bestimmten Bedingungen, bei großer Feuchtigkeit des Tabaks und unter Luftabschluß, eintreten soll. Das Auftreten des Ammoniaks ist also jedenfalls keine Folge der normalen Fermentation, stellt sich vielmehr als ein Symptom beginnender Fäulnis dar. Fesca und Imai (1) vergleichen die Tabakfermentation ganz richtig mit dem Einsäuern und ähnlichen Konservierungsmethoden der Futterpflanzen, und schließen aus den für diese Operationen vorliegenden Untersuchungen auf die Wirkungen des Fermentierens. Demgemäß betrachten sie als solche das Verschwinden der Nitrate, deren Fehlen im fermentierten Tabak sie feststellten, ferner eine weitgehende Zersetzung der Eiweißstoffe unter Auftreten von Amiden, und endlich, allerdings nur als wahrscheinlich, eine Verminderung des Gehalts an Nikotin. Daß die wasserlöslichen Kohlehydrate, der Zucker, bei der Fermentation verschwinden, hat Müller-Thurgau (1) wahrscheinlich gemacht, indem er das regelmäßige Vorkommen von Zucker in dachreifen Blättern, das regelmäßige Fehlen desselben in fermentierten Rohtabaken nachwies. Der Stärkegehalt bleibt bei der Fermentation dagegen unverändert.

Untersuchungen, welche zunächst zu anderen Zwecken in der landwirtschaftlich-botanischen Versuchsanstalt zu Karlsruhe (vgl. Klein, Bericht u. s. f. [1]) an fermentiertem und unfermentiertem Tabak derselben Herkunft ausgeführt wurden, machten als Wirkung der Fermentation außer dem Trockensubstanzverluste wahrscheinlich eine Verminderung des Nikotingehaltes um ca. 28 Proz. der ursprünglich vorhandenen Menge im Mittel von 24 untersuchten Tabaken; der Eiweißgehalt war in allen Fällen gegenüber dem unfermentierten Zustande erhöht, meist allerdings nur wenig. Statt des vorher vorhandenen Asparagins, das verschwunden war, war infolge der Fermentation ein nicht identifizierter Amidokörper aufgetreten. Ammoniak dagegen war mit Sicherheit im fermentierten Tabak nicht nachzuweisen. Gewißheit über die infolge der Fermentation eintretenden chemischen Veränderungen der Blätter können nur solche Untersuchungen gewähren, bei denen von korrespondierenden Teilen, also Längshälften derselben Blätter, die einen im unfermentierten, die anderen im fermentierten Zustande untersucht werden. Solche Untersuchungen veröffentlichte Behrens (4). Nach ihnen beträgt der Verlust an Trockensubstanz, verursacht durch die Gärungsorganismen, 4—5 Proz. Derselbe betrifft in erster Linie die löslichen Kohlehydrate, den Zucker, und die organischen Säuren, die als Salze im Tabak vorhanden sind, und zwar wesentlich die Aepfel- und Citronensäure. Ein großer Teil (30 Proz.) des anfänglich vorhandenen Nikotins war infolge der Fermentation verschwunden. Da das Nikotin nicht im freien Zustande

im Tabak, weder im unfermentierten, noch im fermentierten, vorkommt, sondern in Form nicht flüchtiger Verbindungen, so kann es nicht, wie Vedrödi (1) neuerdings behauptet, durch die bei der Fermentation entstehende Wärme verflüchtigt sein, um so weniger, als der Gesamtstickstoffgehalt vor und nach dem Fermentieren derselbe ist, wenn man den Trockensubstanzverlust während der Fermentation in Rechnung zieht[1]). Vielmehr ist es wahrscheinlich, daß die Fermentationsorganismen einen Teil des Nikotins als Nährstoff benutzen und dementsprechend in andere Verbindungen umsetzen. Sogar bei nicht sehr günstigen Wachstumsbedingungen vermochte nach einem Versuche von Behrens (3) der Schimmelpilz Botrytis cinerea seinen Stickstoffbedarf aus Nikotin zu decken. Die Salpetersäure verschwindet bei der Fermentation ebenso wie der Zucker, und auch das Verschwinden des Asparagins, an dessen Stelle ein anderer Amidokörper auftritt, bestätigte sich. Das Verhältnis des Eiweißstickstoffes zum Gesamtstickstoff erlitt dagegen durch die Fermentation keine Veränderung. Nach wie vor waren 42 Proz. des vorhandenen Stickstoffes in Eiweißform vorhanden. Zusammengehalten mit den Resultaten der vorhin erwähnten Untersuchungen berechtigt das übrigens zu dem Schlusse, daß die Fermentation nicht, wie Fesca und Imai (1) annehmen, eine Verringerung des Eiweißgehaltes bewirkt. Der Gehalt des Tabaks an flüchtigen Säuren war durch die Fermentation auf mehr als das Doppelte gestiegen; wahrscheinlich wird Buttersäure gebildet. Milchsäure findet sich im fermentierten Tabak nicht, dagegen ist es möglich, daß die wiederholt als Tabakbestandteil angegebene Bernsteinsäure aus der Fermentation stammt, da Behrens sie in unfermentiertem Tabak nicht finden konnte. Ammoniaksalze konnten auch bei diesem Versuche nicht mit Sicherheit in den fermentierten Blättern nachgewiesen werden, womit sich die Annahme Vedrödi's (1), die Fermentation bewirke eine Ammoniakbildung, erledigt.

Johnson (1) benutzte zu seinen Untersuchungen verschiedene Blätter, wenn auch gleicher Herkunft. Dadurch verlieren die erhaltenen Zahlen viel von ihrem Werte. Sie bestätigen den Trockensubstanzverlust sowie den Verlust an Nikotin, der bei der Fermentation eintritt. Dagegen ist eigentümlicherweise der Gehalt an Nitraten nicht zerstört, sondern im Gegenteil zum Teil unverhältnismäßig vermehrt, was an individuellen Unterschieden der verschiedenen und von verschiedenen Pflanzen stammenden Blätter zusammen mit ungenügender Fermentation herrühren dürfte. Den Ammoniakgehalt findet Johnson konstant, jedenfalls also keine Ammoniakbildung durch die Gärung. Nur kurz erwähnt sei die von Suchsland (1) ausgesprochene Vermutung, es handle sich bei der Fermentation um die Ueberführung des Nikotins in Nikotianin oder Tabakskampfer. Mit dem Nachweise, daß der letztere stickstofffrei und sowohl im unfermentierten wie im fermentierten Tabak, in beiden in sehr geringer

1) Auch hat schon Th. Schlösing (Sur la perte de nicotine subie par le tabac à la torréfaction (Mémorial des manufactures de l'état. Vol. I. p. 497 ff.) gezeigt, daß selbst beim Rösten, also bei ca. 110° C, der Tabak nur einen ganz verschwindenden Verlust an Nikotin erleidet.

Menge vorhanden ist (im ätherischen Oel?), fällt diese Ansicht von selbst.

Ueber die Organismen selbst, welche die Fermentation des Tabaks bewirken, wissen wir bis heute so viel wie nichts, trotz des hohen Interesses, welches man gerade in den letzten Jahren dieser Frage entgegengebracht hat, seitdem Suchsland in verschiedenen Publikationen (1, 2, 3) seine Idee der Edelfermentation entwickelt hat. Es beruht dieselbe auf den gleichen Gesichtspunkten, die zur Einführung reingezüchteter Hefen in die Gärungsgewerbe, reingezüchteter Milchsäurefermente in die Molkerei u. s. f. geführt haben. Suchsland hat die Bakterienflora von Tabaken verschiedener Herkunft untersucht und natürlich große Verschiedenheiten gefunden. Die beobachteten Mikroorganismen sind meist Stäbchenbakterien, seltener Kokken. Sie sitzen jedem fermentierten Rohtabak in großer Individuen-, aber in meist geringer Artzahl an, und als Suchsland sie in Reinkulturen vermehrt und dann auf andere Tabaksorten übertragen hatte, zeigte sich, daß sie in diesen gediehen und dabei Geschmacks- und Geruchsveränderungen in ihnen erzeugten, welche an den Geschmack und das Aroma ihres ursprünglichen Fundortes, der Tabaksorte, von der sie gezogen waren, erinnerten. Suchsland schlägt nun vor, nach einem ihm patentierten Verfahren die erfahrungsgemäß ein minderwertiges Produkt liefernden dachreifen Tabake z. B. der Pfalz, Uckermark und anderer deutscher Tabakbaugebiete vor der Fermentation mit den Keimen der aus vorzüglichen Tabaken (Havanna u. s. f.) isolierten Bakterien zu versehen und so einen günstigen Gang der Fermentation mit Hilfe der Edelfermente zu sichern. In zwei weiteren Publikationen (2, 3) hat Suchsland über seine Versuche und über die Resultate seiner Methode in der Praxis berichtet. Angeregt durch den ersten Aufsatz Suchsland's hat A. Koch (1) Versuche mit dem Zusatz gezüchteter Edelfermente zu Eichsfelder Tabak gemacht, und ist dabei zu ähnlichen günstigen Resultaten gekommen. Doch haben beide Forscher näheres über die Morphologie und Biologie der von ihnen isolierten Mikroorganismen, speziell über ihre Wirkung auf Tabak in Reinkulturen noch nicht veröffentlicht. In den Kreisen der Praktiker scheint man dem Verfahren von vornherein großenteils kein großes Vertrauen entgegenzubringen.

Was im übrigen über die Flora fermentierenden Tabaks bekannt ist, beschränkt sich auf wenige Thatsachen.

Behrens (1) fand auf den Rippen fermentierten Tabaks sehr verbreitet den thermophilen Schimmelpilz Aspergillus fumigatus Fres., dessen Wachstumsoptimum bei Bluttemperatur ist, und der nicht nur bei Tauben und anderen Tieren, sondern auch bei Menschen schwere Erkrankungen hervorzurufen imstande ist (Lungen- und Otomykosen). Sein Auftreten in den warmen Tabakstöcken hat bei der schon durch Siebenmann nachgewiesenen allgemeinen Verbreitung seiner Keime nichts Auffallendes. An der Fermentation ist er jedenfalls unbeteiligt. Das letztere gilt wohl auch von zwei von Behrens (4) auf (unfermentiertem) Tabak gefundenen Bakterien, deren das eine der bekannte Heubacillus (Bacillus subtilis) war, während das andere,

übrigens nicht ganz rein gezüchtete, ein aërobes Clostridium, ellipsoidische Sporen in angeschwollenen Stäbchen führend, war.

Eine ausführliche Arbeit über die Organismen des Havannatabaks hat Dávalos (1) veröffentlicht. Nach dem mir allein zugänglichen Referat fand er in demselben außer einer „Hefe“ eine Anzahl von Bakterien, die er näher als Bacillus A, B, C, E beschreibt. Drei davon sind aërob, unter ihnen gehört der eine (C) zu den Fluorescentes, Bacillus E allein ist fakultativ anaërob und erwies sich zugleich als pathogen für Meerschweinchen. Ob diese Bakterien alle oder das eine oder andere von ihnen bei der Fermentation eine Rolle spielt, darauf geht der Verf., der sich weitere Mitteilungen über das Endresultat seiner Beobachtungen für später vorbehält, nicht ein. Die „Hefe“ des Verf. bildet Fäden, die sich durch Scheidewände teilen und unbewegliche Kugeln bilden (Sprossung?). Gelatine wird langsam von ihr verflüssigt. Sie bildet den sog. Schimmel der Tabakpflanzen. Nach dieser allerdings nichts weniger als klaren und genügenden Schilderung dürfte die „Hefe“ Dávalos' identisch sein mit einer von Behrens (5) von fermentiertem Tabak erzogenen Moniliaform, die sich von der Monilia candida Hausen nur durch die Verflüssigung der Gelatine vielleicht unterscheidet. Diese Monilia tritt bei uns regelmäßig auf auf den Blättern, welche nach beendeter Fermentation auf kleinere Haufen, sog. Kühlbänke, gesetzt sind, und bildet hier einen weißen, salzartigen Ueberzug, besonders auf den Rippen, auf denen er sich am längsten hält, ein Vorgang, den man als das „Sichreinigen“ des Tabaks bezeichnet. In sehr untergeordneter Zahl findet sich der Monilia beigemischt eine nicht gärfähige Rosahefe (Torula).

Als hierhin gehörig möge ein Versuch des Ref. Erwähnung finden, der den Zweck hatte, das Vorkommen thermophiler Organismen, d. h. solcher, deren Wachtum noch bei Temperaturen von 56—60° C und mehr möglich ist, und die hier eventuell sogar ihr Temperaturoptimum haben, im Tabak festzustellen und eventuell deren Rolle bei der Fermentation klar zu legen. In sterilisierten Tabakextrakt, bereitet durch Auslaugen von 1 Teil Tabak mit 10 Teilen Wasser, wurde teils fermentierter, teils unfermentierter Tabak hineingebracht und das Ganze dann mehrere (5) Tage bei $56\frac{1}{2}$° C gehalten. Es gelang jedoch nicht, weder aus unfermentiertem noch aus fermentiertem Tabak, bei dieser Temperatur Bakterien zu züchten. Es ist also sehr fraglich, ob unter den Urhebern der Selbsterhitzung, wie Lydia Rabinowitsch (1) vermutet, wenigstens beim Tabak, eigentliche Thermophile sind. Jedoch muß hinzugefügt werden, daß der benutzte fermentierte Tabak schon 4 Jahre hindurch aufbewahrt war, so daß in ihm gewiß ein teilweises Absterben der ursprünglich vorhandenen Keime stattgefunden hatte. Weitere Versuche müssen also Klarheit über diesen Punkt bringen, wobei aber nicht zu vergessen ist, daß das Vorkommen thermophiler Bakterien im Tabak bei der allgemeinen Verbreitung solcher Organismen noch nicht genügt, um denselben eine Rolle bei der Fermentation zuzuschreiben.

Vielleicht ist übrigens das, was man als Fermentation bezeichnet, gar kein so einheitlicher Prozeß, insofern an verschiedenen Stellen desselben Stockes vielleicht ganz verschiedene Organismen thätig sind.

Auf etwas Derartiges weist schon die Beobachtung Neßler's (1) hin, daß nur unter gewissen Umständen im Tabak Ammoniak gebildet wird. Sicher ist ferner, daß ein zu großer Wassergehalt der Tabakblätter die Fermentation in höchst verderblicher Weise beeinflußt. Die Fermentation wird dann mehr und mehr ein eigentlicher Fäulnisprozeß, der das Produkt verdirbt. Nähere Untersuchungen darüber fehlen. In einem Tabakmagazin in Mannheim traf Ref. einen durch eingetretene Fäulnis verdorbenen Ballen fermentierten Tabaks, der ganz intensiv nach Buttersäure roch. Die Verderbnis war hier erst nach der Fermentation in dem zur Versendung bereiten Ballen eingetreten, dessen Inhalt wahrscheinlich infolge Lagerung an einer etwas feuchten Mauer wieder mehr Feuchtigkeit angezogen hatte.

Der Winterfermentation folgt bei uns gemeiniglich im April oder Mai noch eine zweite Periode, wo der Tabak zum Warmwerden neigt und die sog. Maifermentation durchmacht.

Nach erfolgtem Fermentieren wird der Rohtabak seiner weiteren Bestimmung zugeführt, und je nach der Art derselben ist natürlich auch seine Behandlung später sehr verschieden. Wir können dabei zunächst zwei große Abteilungen unterscheiden, von denen die eine allen zum Rauchen bestimmten Tabak, also Cigarrentabak sowohl wie eigentlichen Rauchtabak umfaßt, während die andere das für die Herstellung von Schnupf- und Kautabak bestimmte Rohmaterial begreift. In jeder dieser beiden Klassen hat der Tabak eine gewisse Vorbehandlung durchzumachen, bei der Gärungsvorgänge eine nicht unbedeutende Rolle spielen und wesentlich helfen müssen, um das Rohmaterial für seinen Verwendungszweck zu veredeln.

Wagner (1) zählt unter den Mitteln zur Veredelung des Tabaks ganz besonders die Verfeinerung desselben durch längeres Lagern, durchs Altern auf, ein Mittel, das insbesondere bei Rauch- und Cigarrentabaken zur Anwendung kommt. Dabei werden nach Wagner manche übelschmeckende Teile infolge einer unmerklichen Gärung zerstört oder doch vermindert. Der Geschmack wird milder; bei zu langer Dauer des Prozesses wird der Tabak überhaupt geschmacklos. Untersuchungen, ob die Veredelung des Tabaks beim Ablagern u. s. f. wirklich ganz oder doch teilweise auf der Thätigkeit von Organismen beruht, liegen nicht vor. Von vornherein erscheint es weder als unmöglich noch als unwahrscheinlich, da zum Zweck des Alterns oder der Ablagerung der Tabak an mäßig feuchten Orten bei beschränktem Luftzutritt ruhig gelagert wird, die Bedingungen einer Organismenentwickelung also gegeben sind. Daß nicht immer das Lagern die Qualität verfeinert und daß auch unter Umständen sich Organismen entwickeln können, welche die Qualität schädigen, kennt jeder vom Schimmeln zu feucht gelagerter Cigarren her. Bezüglich der Art des auftretenden Schimmels kann Ref. nur den Aspergillus glaucus Lk. nennen, der in einem Falle die Cigarren verdorben und ihnen einen dumpfigen und muffigen Geruch und Geschmack verliehen hatte.

Vielfach aber unterwirft man den Rauchtabak zum Zwecke der Veredelung nach der ersten Fermentation noch anderen Operationen, die ganz zweifellos auf Einleitung von Gärungsvorgängen hinauslaufen

und das Ziel, die Verbesserung von Aroma und Geschmack, wesentlich schneller erreichen lassen als das bloße Altern. Ein derartiges Verfahren teilt z. B. Semler (1) und nach ihm Hanausek (1), als auf Cuba zur Veredelung der Cigarrentabake üblich, mit: Man wählt einige beschädigte und daher für die Cigarrenfabrikation minderwertige Blätter aus, die jedoch von untadelhaftem Aroma sein müssen, und legt sie etwa 8 Tage in Wasser, bis sie verfaulen. Nachdem die Tabakernte die Fermentation durchgemacht hat und trocken geworden ist, öffnet man die einzelnen Tabakbüschel und besprengt die Blätter mäßig mit diesem Wasser, jedoch sehr vorsichtig und derart, daß die Blätter nicht zu feucht werden, weil jedes Blatt, das zu sehr benäßt oder gar durchweicht wird, in Fäulnis übergeht. Dann bindet man die aus 20—30 Blättern bestehenden Büschel wieder zusammen und hängt sie für einige Stunden in das Trockenhaus, um das überschüssige Wasser verdunsten zu lassen. Sobald das geschehen ist, werden die Büschel festgepreßt in Kisten verpackt, in denen sie bleiben bis zur Ueberweisung an die Fabrikarbeiter. Hanausek (1) hat in seiner Mitteilung, unzweifelhaft mit vollem Recht, angenommen, daß in den Kisten eine Gärung stattfindet, verursacht durch die mit dem Macerationswasser der edlen Blätter zugeführten Gärungsorganismen, und er macht darauf aufmerksam, wie analog dieses Verfahren dem von Suchsland und von Koch angestrebten Verfahren der Fermentation mit rein gezüchteten Bakterien ist.

Auch das Spinnen des Tabaks wirkt wesentlich wohl insofern auf die Qualität desselben, als in den Rollen eine Nachgärung stattfindet. Nach Wagner (1) hat der Virginiatabak frisch einen ekelhaften Geruch, der erst nach 14- bis 15-monatlichem Lagern verschwindet. Um diese Zeit zu sparen, setzt man ihn zunächst kurze Zeit heißen Wasserdämpfen aus, läßt ihn dann in dampfgesättigter Luft bei ziemlich hoher Temperatur eine Zeit lang „schwitzen“ und preßt ihn endlich feucht in Fässer ein, in denen er eine Nachgärung durchmacht, die ihn in kürzerer Zeit ebenfalls sehr verbessert. Aber auch andere Tabake werden ähnlicher Behandlung vielfach unterworfen. Man läßt sie bei Luftabschluß oder doch bei sehr beschränktem Luftzutritt noch einmal gären und setzt dem Tabak, um diese Gärung einzuleiten, vielfach Hefe, zuckerhaltige, also gärungsfähige Stoffe u. dgl., und andererseits, um Fäulnis zu verhüten, Weinstein oder Kochsalz zu. Näheres darüber, speziell auch über die Zusammensetzung von Saucen, mit denen Spinntabake u. dgl. sauciert werden, findet man bei Hermbstädt (1), Wagner (1), Kißling (1), Koller (1) u. s. f. Der Hefezusatz sowie die häufige Wiederkehr zuckerhaltiger Substanzen in den Saucen machen es wahrscheinlich, daß bei dieser Veredelungsmethode auch alkoholische Gärungen vor sich gehen. Wir kommen später noch einmal darauf zurück. Specielle Untersuchungen über alle diese Nachgärungen giebt es bis jetzt nicht.

Wir gehen über zu den Gärungen, welche die für die Schnupf- und Kautabakfabrikation, vornehmlich die für die erstere bestimmten Rohtabake nach der ersten Fermentation noch durchmachen, und für welche von französischer Seite eine Anzahl von Arbeiten vorliegen.

Die Gärungen werden ähnlich wie bei der Veredelung des Rauchtabaks eingeleitet. Diejenigen, welche speziell der Schnupftabakfabrikation eigentümlich sind, können wir unterscheiden, je nachdem der Tabak im fein zerschnittenen oder gepulverten Zustande fermentiert wird, oder ob er, in die Form sog. Karotten gebracht, eine noch länger dauernde langsame Fermentation durchmacht.

Mit Rücksicht auf die lange Zeit, welche die Fabrikation von Karottentabaken in Anspruch nimmt, und auf den infolgedessen eintretenden Zinsverlust hat man sich jetzt meist der ersteren Methode, der Fabrikation des Râpé, zugewandt, und insbesondere stellt auch die französische Regie den meisten Schnupftabak nach dieser Methode her, ein Umstand, dem wir eine Anzahl ausgezeichneter Arbeiten über die dabei stattfindende Gärung verdanken. Die Temperatur steigt hier viel höher als bei der ersten Fermentation, und es können auch Fälle von Selbstentzündung vorkommen. Bezüglich des Einflusses der Luft auf die Gärung des Schnupftabaks verweise ich auf die Abhandlung von Pinat und Grouvelle (1), worin gezeigt wird, daß nur in einer Zone, die in gewisser Entfernung von der an die Luft grenzenden, Wärme ausstrahlenden Oberfläche beginnt und ebenso nach dem Innern des Haufens hin begrenzt ist, die Gärung eine relativ schnelle und zufriedenstellende ist. Belhomme (1) hat durch Versuche die hohe Wichtigkeit des richtigen Wassergehaltes für die Schnupftabakfermentation bewiesen. Schon geringe Unterschiede von 1 Proz. riefen große Schwierigkeiten und lästige Unannehmlichkeiten bei der Fermentation hervor. Wichtiger als die eben erwähnten Untersuchungen sind jedoch die Arbeiten Schlösing's.

Eine Arbeit des älteren Schlösing über die Fermentation des Schnupftabaks ist mir leider unbekannt geblieben. Ich entnehme dem ersten Aufsatze Th. Schlösing's (1), daß dieselbe den Chemismus der Fermentation behandelt, und daß sie als Hauptresultat den Nachweis enthält, daß die Schnupftabakfermentation wesentlich in einer kräftigen Verbrennung der organischen Substanz auf Kosten des atmosphärischen Sauerstoffes beruht. Th. Schlösing stellt sich in seinen Arbeiten die Frage, ob die Fermentation ein rein chemischer Vorgang ist, oder ob sie auf der Entwickelung und Thätigkeit von Mikroorganismen beruht.

(Schluß folgt.)

Referate.

Went, F. A., Die Schwefelkohlenstoffbildung durch Schizophyllum lobatum. Mit Tafel. (Berichte d. Deutsch. Botan. Gesellsch. 1896. Heft 4. p. 158—163.)

Das auf Java sehr verbreitet auf alten abgefallenen Zweigen von Podocarpus, toten Bambusastengeln und ebensolchem Zuckerrohr vorkommende Schizophyllum lobatum Bref. erzeugt am Mycel eigenartige kurze Seitenzweige, an deren Spitze Tröpfchen einer stark lichtbrechenden Flüssigkeit zu erscheinen pflegen. Gleichzeitig beobachtet man einen auffälligen Geruch nach Schwefelkohlenstoff, und Verf. sucht nun festzustellen, ob es sich hier thatsächlich um Entstehung dieses Stoffes handelt. Hierzu wurde der Pilz in Kultur genommen (Zuckerpepton) und das in alkoholischer Kalilauge aufgefangene Destillat der Kulturflüssigkeit näher untersucht. Der nach entsprechender Behandlung entstehende Niederschlag von xanthogensaurem Kupfer wies auf das Zutreffen der Annahme hin.

Quantitative Bestimmungen ergaben, daß die gebildete Menge zwar nicht sehr groß, aber doch deutlich nachweisbar war; auch schwankte sie unter sonst gleichen Bedingungen merklich, so daß unter Umständen der Stoff ganz fehlen kann. Diese hinsichtlich der Ursachen bislang noch unaufgeklärte Variabilität in der Erzeugung dieses Nebenproduktes ist immerhin eine bemerkenswerte Erscheinung, die manchen anderen ähnlichen an die Seite zu stellen ist; vielleicht spricht das Alter des Aussaatmaterials dabei mit.

Der Schwefelkohlenstoff als solcher oder in einer sich alsbald zersetzenden Verbindung scheint aus jenen kurzen Seitenzweigen („Drüsen") abgeschieden zu werden, möglich wäre also, daß die Zahl dieser über seine Menge entscheidet. In einer Wasserstoffatmosphäre (wo Pilzentwickelung stattfand) wurde er jedoch garnicht oder nur in Spuren gebildet. Versuche zwecks Feststellung der für seine Bildung in Betracht kommenden Schwefelverbindung ergaben auf Grund jener genannten Variabilität kein präcises Resultat.

Der am besten mit Pepton (Nitrate und Ammonsalze waren ungeeignet) als Stickstoffquelle ernährte Pilz erzeugt übrigens auch einen Alkohol (wahrscheinlich Aethylalkohol) und ruft bei Luftabschluß eine lebhafte Gärung hervor; die so entstehende Kohlensäuremenge ist wesentlich erheblicher als bei Luftzutritt, wie durch Auffangen in Barytwasser konstatiert wurde. Alkohol wurde aber auch hier gebildet. — Die zum Teil kolorierte Tafel giebt neben mikroskopischen Pilzelementen (Gemmen, Drüsen, Schnallen) ein hübsches Habitusbild der Hüte an einem Zuckerrohrstengel.

Wehmer (Hannover).

Lindner, Paul, Fruchtätherbildung durch Hefen in Grünmalz und in Würzen. (Wochenschr. f. Brauerei. 1896. No. 23. p. 552.)

Wenn Grünmalz einige Zeit in einem Gefäß bei reichlicher Luftmenge stehen gelassen wird, so nimmt man bald einen intensiven Geruch nach Fruchtäthern wahr. Mikroskopisch lassen sich Hefen nachweisen, die als dem Sacch. anomalus nahestehend bezeichnet werden müssen. Letzterer bildet in Würze, namentlich nach eingetretener Deckenbildung, reichlich Fruchtäther. Je länger das Malz stehen bleibt, um so kräftiger vermehren sich die Hefen, das Malzkorn erscheint ganz weiß von den Hefenmassen.

Der Verf. änderte den Versuch in der Weise ab, daß er quellreife Gerste in eine längere Glasröhre locker einfüllte, die beiderseits mit durchlochten Korken versehen wurde, um der Luft den Zutritt zu gestatten. Nach einigen Wochen fanden sich bis zu 0,5 cm breite, trocken aussehende Hefeklumpen an der Glaswandung vor. Der Geruch nach Fruchtäther war wochenlang in unverminderter Stärke wahrzunehmen. Wird das Malz feuchter eingefüllt, so unterbleibt die Klumpenbildung, die Hefenbildung ist geringer und das Malz nimmt einen an eingemietete Rübenschnitzel erinnernden Geruch an.

Am Korn selbst bildet die Stelle, wo die Wurzelscheide und die Würzelchen hervortreten, die bevorzugtesten Ansiedelungspunkte. Die Wurzelkeime nehmen eine violette Färbung an. Wahrscheinlich handelt es sich hier um die Reaktion eines diastaseartigen Körpers (Lakkase?). Hoffmann zeigte, daß nur die Kornhälften mit den Keimlingen eine intensive Blaufärbung ergeben, während die anderen ungefärbt bleiben. Eine ähnliche Färbung wird beobachtet, wenn man Gersten- oder Malzschrot mit sterilem Wasser einige Tage stehen läßt, und zwar ist die Färbung am intensivsten bei 33° R, bei der sich eine kräftige Buttersäure- resp. auch eine Milchsäuregärung (durch Pediococcus acidi lactici) entwickelt. Auch bei 40° R, wo fast ausschließlich der Heubacillus zur Entwickelung kam, zeigte dessen Haut eine schwach bläulichrötliche Färbung. Am markantesten tritt die Blaufärbung an der Oberfläche auf, ist also jedenfalls an die Gegenwart von Sauerstoff gebunden.

Ebenso wie bei den oben erwähnten Kahmhefen konnte der Verf. auch bei Kulturhefen des Oefteren, besonders in Reinzuchtapparaten bei kräftiger Lüftung starken Geruch nach Fruchtäthern wahrnehmen. Die Hefe Saaz wies in konzentrierter Zuckerlösung Fruchtätherbildung auf, auch die Dextrosehefen Saccharomyces apiculatus und 129 der Berliner Sammlung zeigten die Eigenschaft, während andere Dextrosehefen, wie S. exiguus und S. Ludwigii Hansen unter den gleichen Bedingungen keinen Fruchtäther bildeten. Läßt man dagegen die zuerst genannten Hefen einfach in Bierwürze ohne Lüftung gären, so merkt man von einem Fruchtäthergeruch so gut wie nichts

Der Verf. glaubt nach gelegentlich gemachten Beobachtungen annehmen zu dürfen, daß die Fruchtäther stark antiseptische Eigenschaften, namentlich gegen Bakterien besitzen. Es dürfte von Interesse sein, zu untersuchen, in wie weit die zusammengesetzten Aether hemmend auf Säurebakterien wirken, speziell die Essigsäurebakterien, die doch große Mengen Essigsäure vertragen können. Die auffallende Haltbarkeit mancher obergärigen Hefen, z. B. Brennerei- und Preß-

hefen, die nach dem sog. Lufthefeverfahren erzeugt werden, steht nach dem Verf. mit dem starken, säuerlich ätherischen Geruch, der ihnen fast immer anhaftet, in Zusammenhang. In den hohen Durchlüftungsbottichen machen sich während der Gärung diese Stoffe in angenehmster Weise unseren Geruchsnerven bemerklich.

(Hierzu möchte der Ref. bemerken, daß jenen angenehmen, erfrischenden, zur Hauptsache wahrscheinlich von einem Kohlensäureäthylester herrührenden Geruch die nach dem Lüftungsverfahren erzeugte Hefe bedeutend weniger aufweist, als die nach dem alten Verfahren — treberhaltige Roggenmaische, ohne Lüftung — hergestellte. Der sich während der Hauptgärung in den Durchlüftungsbottichen bemerkbar machende ätherische Geruch, welcher nicht gerade in hohem Grade in der wenig konzentrierten Würze hervortritt, ist am Ende der Gärung infolge der starken Lüftung meist vollständig verschwunden. Man nimmt nur noch einen schwach säuerlichen Geruch wahr. In Uebereinstimmung mit dem Verf. konnte Ref. im Reinzuchtapparat bei verschiedenen obergärigen Heferassen, namentlich in konzentrierterem Würzen, intensiven Fruchtäthergeruch während der Gärung wahrnehmen. Besonders auffallend war die Fruchtätherbildung bei Rasse II.)

Zum Schlusse macht Verf. darauf aufmerksam, daß es jedenfalls zweckmäßiger wäre, S. exiguus zur Dextrose zu verwenden, anstatt den S. apiculatus, da es doch nicht ausgeschlossen sein dürfte, daß die erzeugte Essigsäure, ehe sie sich mit dem Alkohol verbindet, invertierend auf die eine oder die andere Zuckerart wirkt.

Munsche (Wandsbek-Hamburg).

Van Breda de Haan, J., Een ziekte in de Deli-Tabak veroorzaakt door het Tabaks-Aaltje. (Voorloopige Mededeelingen.) Batavia 1896.

In dem vorliegenden kurzen Berichte hat der Verf., dessen ausführliche Monographie der Bibit-Ziekte erst vor kurzem erschienen ist, eine weitere Krankheit des Sumatratabaks zum Gegenstande der Darstellung gemacht, welche er kurz schon in dem 1893 erschienenen Berichte über die Bibitkrankheit erwähnt hatte.

Es handelt sich um eine Wurzelerkrankung, hervorgerufen durch Nematoden, welche ein Zurückbleiben der Pflanzen an meist scharf umgrenzten Stellen des Feldes oder in den Saatbeeten zur Folge hat. Die Art der vorliegenden Nematode ist noch nicht näher bestimmt. Sie steht, wenigstens bezüglich ihrer Größenverhältnisse, in der Mitte zwischen Heterodera radicicola und H. javanica, mit denen sie unzweifelhaft in das gleiche Genus gehört. Nachdem Verf. 1893 auf die Krankheit zuerst aufmerksam gemacht worden war, wurde 1894 ihr häufiges Auftreten seitens der Pflanzer gemeldet.

Meist tritt sie auf Tabakfeldern auf, die schon wiederholt Tabak getragen haben, und erscheint dann als eine Art Tabakmüdigkeit des Bodens, ähnlich wie die von Kühn in seinen schönen Arbeiten enträtselte Rübenmüdigkeit. Aber auch auf Neuland, das eben dem Urwalde abgenommen und zum ersten Male mit Tabak bebaut wird, zeigt sich die Krankheit. Ja selbst auf noch nicht bepflanztem,

eben gerodetem Waldboden fanden sich an wilden Pflanzen die Wurzelanschwellungen, von denen allerdings noch zweifelhaft bleibt, ob ihre Bewohner mit den Tabaksnematoden identisch sind. Auch auf Java sind die letzteren nicht fremd.

Die Tabakpflanze wird in jedem Altersstadium von der Krankheit ergriffen. Wird sie auf dem Saatbeet infiziert, so finden sich an Pflanzen, die noch nicht über 30 Tage alt sind, schon Wurzelanschwellungen mit den von Eiern erfüllten Cysten, ganz wie bei Heterodera radicicola. Das Wurzelsystem der befallenen Pflanzen bleibt zugleich in seiner Entwickelung weit hinter dem gesunder Pflanzen zurück; besonders auffallend ist der Mangel feinster Haarwurzeln, der Träger der Wurzelhaare. Die Pflanzen wachsen natürlich weit langsamer als gesunde, sehen bleich und kränklich aus, werden endlich gelb und sind zum Auspflanzen gänzlich ungeeignet.

Im wesentlichen ähnlich ist das Krankheitsbild bei den auf dem Felde stehenden Pflanzen. Dabei sind zwei Fälle zu unterscheiden, je nachdem bereits kranke Pflänzlinge zum Aussetzen in guten, nematodenfreien Boden verwendet sind, oder gesunde Pflanzen auf nematodenhaltige Felder gebracht wurden. Im ersteren Falle entwickelt die Pflanze zunächst eine Anzahl junger Wurzeln, welche so lange gesund bleiben, bis von den Anschwellungen der alten Wurzeln her junge Nematoden zu den neuen Wurzeln gewandert und in diese eingedrungen sind. Die Pflanze wächst zuerst lebhafter, erst dann, wenn die jungen Wurzeln befallen sind, steht ihr Wachstum still. Im zweiten Falle werden die neugebildeten Wurzeln sofort befallen und der Wachstumsstillstand tritt sofort ein. Auch im späten Alter ist die Ursache resp. der Gang der Infektion bei Feldpflanzen leicht festzustellen, indem bei erst auf dem Felde befallenem Tabak die Hauptwurzel gesund und erst die Neben- und Seitenwurzeln erkrankt sind, während bei den aus kranken Saatbeeten geholten Pflanzen gerade die centralen ältesten Teile des Wurzelsystems am stärksten befallen sind. Werden kranke Setzlinge auf verseuchte Felder ausgepflanzt, so ist ein solcher Unterschied natürlich nicht vorhanden. Die kranken Pflanzen bleiben in der Größe hinter gesunden zurück, schreiten früh zur Blütenbildung, ihre unteren Blätter werden bald gelb, an warmen Tagen leiden sie sichtlich unter Wassermangel, endlich gehen die Anschwellungen unter Fäulniserscheinungen zu Grunde und bilden ebensoviele Eingangspforten für Fäulnispilze.

Bei der Schilderung der Entwickelungsgeschichte und Biologie der Tabaksnematoden benutzt Verf., da seine Forschungen noch nicht überall abgeschlossen sind, vielfach das über andere Wurzelnematoden Bekannte und überträgt es auf den hier in Frage kommenden Schädling. Die Dauer einer Generation von Ei zu Ei beträgt in Deli ca. 30 Tage, so daß in 120 Tagen, der mittleren Vegetationszeit der Tabakpflanze, 4 Generationen erzeugt werden, was unter der Annahme ähnlicher Fruchtbarkeit wie bei der Rübennematode eine Nachkommenzahl eines einzigen Aelchens von über 3 Millionen bedeuten würde. Daraus erhellt wohl die Gefährlichkeit der Seuche.

Verbreitet werden die Krankheitsorganismen, deren Träger unzweifelhaft, neben den Tabakswurzeln selbst, der Boden ist, einmal

durch das Verpflanzen kranker Exemplare, dann aber durch das Verschleppen der Eier, die sowohl Trockenheit wie Wasser vertragen können, mit Erde, die an den Werkzeugen, sowie an den Schuhen und nackten Füßen der Kulis klebt. Bestätigt wird das durch die Beobachtung, daß auf einem sicher vorher unverseuchten Felde, das nur mit gesunden Pflanzen besetzt war, kranke Pflanzen vorkamen. Da auf der Unternehmung die Krankheit sonst nur in einem Saatbeete vorgekommen war, so ist das Auftreten auf dem Felde darauf zurückzuführen, daß ein Kuli die Pflanzen dort mit derselben Hacke angehäufelt hat, mit der er kurz vorher das kranke Saatbeet umgehackt hatte. Dementsprechend sind Maßregeln zu treffen, die Verbreitung der Krankheit zu hindern. Auf solche prophylaktische Maßregeln ist überhaupt das Hauptgewicht zu legen. Gegen das schon bestehende Uebel ist weit schwerer und mit weit weniger Aussicht auf Erfolg anzukämpfen.

Von solchen Mitteln bespricht Verf. einzelne, welche in Europa gegen die Rübenmüdigkeit schon versucht sind, wie insbesondere der Schwefelkohlenstoff und der Kalk, ohne sich — jedenfalls mit Recht — viel von solchen Chemikalien zu versprechen. Die Fangpflanzenmethode Kühn's, welche bei der Rübenmüdigkeit so große Erfolge erzielt hat, ist auf den Tabakfeldern wegen der eigenartigen Kulturmethode nicht gut zu verwenden. Dagegen wären Versuche auf erkrankten Saatbeeten mit Tabak als Fangpflanze nicht ohne Aussicht auf Erfolg. Auf dem Felde dürfte es sich nur empfehlen, nach der Ernte die entblätterten Strünke mit den Wurzeln auszuziehen und samt den Wurzelknöllchen und den in diesen vorhandenen Nematoden durch Feuer zu vernichten.

Nicht ohne Interesse dürfte der Hinweis sein, daß auch bei uns in Deutschland an einer Stelle eine derartige, von Nematoden hervorgebrachte, übrigens nicht sehr schädliche Tabaksmüdigkeit des Bodens beobachtet ist (5. Bericht über die Thätigkeit der landw.-botanischen Versuchsanstalt in Karlsruhe für die Jahre 1888—1894 und zum Teil 1895. Karlsruhe 1896. p. 170). Behrens (Karlsruhe).

Sorauer, P., Auftreten einer dem amerikanischen „Early blight" entsprechenden Krankheit an den deutschen Kartoffeln. Mit 1 Tafel. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. 1896. Heft 1. p. 1—9.)

Verf. beschreibt eine seit mehreren Jahren in Ungarn beobachtete Lauberkrankung der Kartoffel, die in ihren Merkmalen nicht mit der Phytophthoraerkrankung übereinstimmt und in Europa bislang noch nicht gefunden wurde. Sie scheint mit dem amerikanischen „Early blight" identisch zu sein, wenngleich diese Thatsache noch nicht ganz fest steht. Als deutschen Namen erhält sie zweckmäßig die Bezeichnung „Dürrfleckenkrankheit". Die Knollenernte kann durch sie merklich beeinträchtigt werden.

Kennzeichnend für sie ist ein allmähliches Vergilben des Blattes unter Auftreten isolierter dürrwerdender Flecken mit nachfolgendem Verdorren des Laubes. Bei der Untersuchung derartigen Materiales findet man innerhalb der absterbenden Stellen septierte Hyphen,

sowie oberflächlich zahlreiche mit ihnen in Zusammenhang stehende große mehrzellige, keulenförmige, grau- oder tiefbraune Sporen von ansehnlicher Größe. Wenngleich künstliche Infektionen nicht gerade immer gelangen, so ergiebt sich aus den erzielten positiven Resultaten doch hinlänglich, daß dieser Pilz Ursache der Krankheit ist, denn unter günstigen Umständen vermögen die aus der keimenden Spore hervorgehenden Fäden durch die Spaltöffnungen in das Blatt einzudringen, um nun das Bild der Krankheit zu erzeugen. Das Gegebensein gewisser Nebenumstände ist somit auch hier erforderlich, um die Ansteckung herbeizuführen und solche werden auch im Freien bei Uebertragung der Krankheit eine Rolle spielen müssen. Gerade dieses Moment ist — gegenüber der oft einseitigen Berücksichtigung des Krankheitserregers — ja auch in anderen Fällen wiederholt vom Verf. betont worden.

Auf der Oberfläche der erkrankten Blätter treten neben zahlreichen Hefezellen noch bisweilen starke Vegetationen von Cladosporium herbarum sowie Bakterienkolonieen und Alternariaketten auf. Letztere gehören, wie sich aus diesbezüglichen Kulturen ergab, jenem pilzlichen Eindringling an, welchen Verf. demgemäß als eine Alternaria anspricht und als A. Solani bezeichnet. Gegen Macrosporium Solani Ell. et Mart., an das zunächst zu denken, bestehen zum Teil wenigstens gewisse Unterschiede, wenngleich die Art der Blattflecke und anderes ganz mit dem über die amerikanische Krankheit bekannten übereinstimmte. Doch war zum Vergleich von Galloway erhaltenes Material nicht mehr keimfähig, so daß hier speziell auch die Art der Anheftungsweise der übrigens ganz gleichen Konidien nicht mehr festzustellen war.

Die Uebertragung der Krankheit gelang bis jetzt nur auf abgeschnittene, unter der Glasglocke feucht gehaltene Sprosse von Solanum tuberosum und Lycopersicum, dagegen nicht auf solche von Solanum robustum, S. violaceum, S. Warscewiczii und Nicotiana tabacum. Die Knollen scheinen nicht angegriffen zu werden, jedenfalls wird die Korkschale nicht durchwachsen.

Uebrigens hat die Alternaria große Aehnlichkeit mit Polydesmus exitiosus Mont., den Kühn als Sporidesmium exitiosum beschrieb, doch hält Verf. die Gattung Polydesmus nicht für hinreichend begründet; eine Identität mit dem Macrosporium Solani Ell. et Mart. ist also, wie schon bemerkt, noch keineswegs ausgeschlossen, es ist das durch Kultur dieses Materials näher zu prüfen. Mit der „Kräuselkrankheit", als deren Ursache von Schenk Polydesmus exitiosus angegeben wurde, hat die vorliegende Erkrankung nichts zu schaffen und ebensowenig mit einer angeblich durch Cercospora concors veranlaßten, durch Caspary in der Umgegend Berlins beobachteten Krankheit; hier lag überhaupt keine Cercospora, sondern ein Fusisporium vor. Es ist aber schwer anzunehmen, daß die Krankheit bisher stets übersehen ist.

Wahrscheinlich ist der durch sie veranlaßte Schaden mehrfach der gewöhnlichen Kartoffelkrankheit zugeschrieben, denn der Pilz ist

thatsächlich auch im Jahre 1895 — wie aus Einsendungen alten Kartoffelkrautes an den Verf. von verschiedenen Orten hervorgeht — recht verbreitet gewesen. Da er früher als der Blattfäulepilz auftritt, empfiehlt es sich, im laufenden Jahre frühzeitig die Aufmerksamkeit auf ihn zu lenken, somit auch zeitig mit der Besprengung zu beginnen.

Die hier nur in den allgemeinen Zügen kurz wiedergegebenen bemerkenswerten Darlegungen des Verf.'s werden durch eine anschauliche Tafel näher erläutert. Wehmer (Hannover).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Hoffmann, Friedr., Vereinfachung bei bakteriologischen Züchtungsmethoden. [Mitteilung aus der Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin.] (Wochenschr. f. Brauerei. 1896. No. 23. p. 555.)

Gelegentlich der Untersuchung von verschiedenen Getreidesorten auf Zahl und Art der vorhandenen Mikroorganismen (Bakterien, Hefen, Schimmelpilzen) fand der Verf., daß sich die bisherigen Züchtungsmethoden als unzulänglich erwiesen.

Sie boten nicht die nötige Sicherheit für die Isolierung der die Gelatine verflüssigenden Organismen und der Proteusarten, die, auf der Oberfläche des Nährbodens ausschwärmend, sich mit anderen Kolonieen vermischten. Auch erforderten die Methoden viel Zeit und viel kostbare Kulturböden. Am geeignetsten erwies sich folgende Methode, welche die Lindner'sche Tropfenmethode zur Grundlage hat. Letztere gestattet bekanntlich, daß sich in einem Tropfen nur ein Individuum befindet, sich entwickelt und fortpflanzt, ohne von anderen Organismen gestört oder verunreinigt zu werden.

Die zu untersuchenden Organismen werden in sterilem Wasser in solcher Verdünnung verteilt, daß die Lösung gerade noch eine Trübung zeigt.

Von etwa 6 Probiergläsern, die je ca. 5—10 ccm steriles Wasser enthalten, wird nun Probierglas No. 1 mit einigen Tropfen der Bakterienlösung versetzt, gut durchgeschüttelt, davon einige Tropfen in No. 2 gegeben u. s. w., so daß No. 6 die größte Verdünnung aufweist.

Sämtliche 6 Gläser werden sodann gänzlich ausgegossen und die geringen Reste, welche die Organismen enthalten, zur Analyse verwendet.

In Probierglas No. 6 wird nun sterile Fleischsaftgelatine, welche im Wasserbade auf 35—40 ° C erwärmt war, gegossen, tüchtig durchgeschüttelt, der Inhalt hierauf von Glas 6 in Glas 5 gebracht und dieses in das auf 35—40 ° C erwärmte Wasserbad gestellt, während mit dem Reste der in No. 6 zurückgebliebenen Gelatine auf die innere

Seite der einen Hälfte einer vollständig erkalteten, sterilen Petrischale Tropfen aufgetragen werden, indem man mit dem Rande des Probierglases schnell hintereinander die nach oben gehaltene Glasfläche berührt. Die so vorbereitete Petrischalenhälfte wird mit der offenen Seite nach unten gekehrt, einstweilen auf steriles Filtrierpapier gesetzt und das mit Wattepfropf versehene Reagensglas wagrecht auf den Tisch gelegt. Das Wachstum der Kolonieen läßt sich in dem dünnwandigen Reagensglas mit dem Mikroskop gut verfolgen.

Das erwärmte Probierglas No. 5 wird in No. 4 entleert, dieses ins Wasserbad gestellt, mit No. 5 die Tropfenkultur in der anderen Hälfte der zuerst benutzten Petrischale angestellt u. s. w.

Hierauf werden beide Schalenhälften zusammengelegt und eventuell, wenn man Organismen bei höheren Temperaturen zur Entwickelung bringen will, mit einem Gummiring zur Vermeidung der Verdunstung umgeben. Die Reagensgläser können in diesem Falle mit Korkpfropfen oder mit Gummikappe versehen werden.

Hat man in der oben beschriebenen Weise die Gelatine in Probierglas No. 1, also in die konzentrierteste Lösung übergegossen und durchgeschüttelt, so kann man den Ueberschuß, wenn man ihn nicht fortgießen will, in ein anderes steriles Reagensglas thun, um etwa die Entwickelung von Gasen oder dergl. zu beobachten.

Selbstverständlich ist, daß man schnell und mit großer Vorsicht arbeiten muß, um Infektion zu vermeiden.

Diese Methode macht es möglich, mit einem Gelatineröhrchen 6 und mehr Verdünnungen herzustellen.

Bei einiger Uebung erreicht man leicht, daß einzelne Tropfen in der Petrischale Reinkulturen enthalten, die sich bald zu Kolonieen entwickeln, denen man nun Proben zur näheren Untersuchung entnehmen kann. Auch lassen sich die Kolonieen beliebig lange aufbewahren, selbst wenn sie aus verflüssigenden Bakterien bestehen, ohne in die Gefahr zu geraten, durch benachbarte Kolonieen verunreinigt zu werden.

Die mit der vorstehenden Methode erlangten Resultate sollen in einer späteren Arbeit niedergelegt werden.

Munsche (Wandsbek-Hamburg).

Lindner, Paul, Ein einfaches Modell zur Erläuterung des Begriffes Reinkultur. (Wochenschr. f. Brauerei. 1896. No. 23. p. 569.)

In der Gruppe Gartenbau der Berliner Gewerbeausstellung hat Lindner in sehr sinnreicher und geschickter Weise inmitten von Reinkulturen von den verschiedensten Gärungsorganismen und von photographischen Bildern derselben ein Modell vorgeführt, welches recht anschaulich und verständlich den Begriff „Reinkultur“ erläutern dürfte.

Eine große Glasplatte, welche die Stelle des Deckgläschens und eine dazu passende flache Glasschale, welche die des hohlgeschliffenen Objektträgers bei einer Tröpfchenkultur vertreten, liegen auf dem Tisch. Die Glasschale muß man sich mit der Glasplatte durch Vaselin wie beim Präparat luftdicht verbunden denken. Uhrglas-

schälchen mit der Höhlung nach unten sind auf der Glasplatte, Würzetröpfchen darstellend, in mehreren Reihen geordnet.

Porzellankügelchen, Reiskörner, indischer Sago mit Fuchsin rot gefärbt und nicht gefärbt, Gries und etliche weiße Haarspitzen stellen der Reihe nach Kulturhefezellen, pastorianusartige Hefeformen, Zellen der roten Hefe, kleinzellige Torulaarten, Kugelbakterien (Pediokokken) und das stäbchenförmige Milchsäureferment dar. Die Größenverhältnisse dieser Gegenstände sind so gewählt, daß eine 600-fach gedachte Verkleinerung der natürlichen Größe der verschiedenen Hefezellen bez. Bakterien entsprechen würde.

Unter die verschiedenen Uhrglasschälchen ist die Verteilung nun in folgender Weise angeordnet: No. 1 enthält von allem etwas; Kulturhefen, wilde Hefen und Bakterien sind zusammengemischt. Unter dem zweiten Uhrschälchen sieht man nur ein Porzellankügelchen, unter dem dritten nur ein rotes, unter dem vierten nur ein weißes Sagokörnchen, unter dem fünften ein Grieskorn, unter dem sechsten ein einziges Haarstückchen. Das siebente Schälchen enthält 100 Porzellankügelchen, das achte einige hundert rote Sagokörner u. s. w.

Diese Art der Anordnung soll bedeuten, daß sich in einem Würzetröpfchen, das ursprünglich nur eine Zelle Aussaat erhalten, inzwischen eine zahlreiche Nachkommenschaft entwickelt hat. Da die Zellen eines Tröpfchens gemeinsame Abstammung haben, stellen sie also eine Reinkultur dar.

Munsche (Wandsbek-Hamburg).

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Prof. Dr. M. W. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. A. B. **Frank** in Berlin, Dr. v. **Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg
herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

II. Band. Jena, den 15. September 1896. **No. 17.**

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige ***Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original-Mittheilungen.

Beobachtungen über die Sporen- und Glykogenbildung einiger Hefen auf Würzegelatine. Die Blaufärbung der Sporen von Schizosaccharomyces octosporus durch Jodlösung.

[Aus dem Berliner Laboratorium der Versuchsbrauerei.]

Von

Dr. **Paul Lindner.**

In der letzten Zeit habe ich bei Gelegenheit der Ueberimpfung von älteren Hefekulturen auf frische Nährgelatine nicht verabsäumt,

die mikroskopischen Präparate auch der Einwirkung der Jodjodkaliumlösung auszusetzen, um die Gegenwart von Glykogen in den Zellen festzustellen. Die Kulturen waren sämtlich gegen 4 Monate alt und hatten infolge der gesteigerten Temperatur, z. T. auch infolge des Peptonisierungsvermögens die Gelatine teilweise oder ganz verflüssigt. Die vom Grunde der Gelatine oder von den Wandbelägen oder aus der Decke entnommenen Proben wurden zunächst mit einem Wassertropfen vermischt unter das Deckglas gebracht und auf Gegenwart von Sporen untersucht; später wurde die Jodlösung vom Rande aus zufließen gelassen.

Auf das Vorhandensein der Sporen pflege ich jetzt deshalb ein besonderes Augenmerk zu richten, weil ich früher bei meinem Saccharomyces farinosus die merkwürdige Thatsache konstatiert hatte, daß im Laufe einiger Jahre diese Hefe bei der Kultur auf Würzegelatine die Fähigkeit, Sporen zu bilden, vollkommen verloren hatte. Der Fall ist deshalb noch von besonderem Interesse, weil es sich hier um eine Hefe handelt, die nach meinen früheren Erfahrungen von allen Hefen weitaus am ergiebigsten in der Sporenbildung war. Seit Jahren suche ich nun stets vergeblich danach. Auch andere Hefen scheinen in demselben Sinne durch die lange Kultur beeinflußt zu werden; so konnte ich z. B. diesmal bei S. hyalosporus und S. Bailii keine Sporen mehr auffinden, wo sie früher stets in größerer Menge anzutreffen waren. Von den Anomalusarten zeigte die von Zeidler aus Eibischsaft isolierte (No. 177 unserer Sammlung, vergl. Lindner, Mikroskopische Betriebskontrolle. p. 215) nur noch ganz vereinzelt Zellen mit Sporen, die aus dem Hansen'schen Laboratorium stammende S. anomalus gar keine mehr, ganz im Gegensatze zu früheren Kulturen. S. anomalus belgicus, die nicht gärende und niest Fruchtäther bildende Anomalusart dagegen hat die sporenbildende Kraft ziemlich ungeschwächt sich erhalten; dasselbe gilt von einem S. anomalus aus einem amerikanischen Betriebe (No. 360 der Sammlung). Bei Saccharomyces Ludwigii Hansen wurden nur ganz selten und bei S. exiguus und S. Delbrücki gar keine Sporen mehr gefunden. Schizosaccharomyces Pombe und octosporus bilden sie noch ziemlich häufig aus.

Eine der von mir mit am längsten kultivierte Hefen, eine Berliner Weißbierhefe, erzeugt jetzt nach ca. 9 Jahren immer noch reichlich Sporen auf Würzegelatine. Die aus einem ganz konzentrierten, in Gärung geratenen sizilianischen Traubenmost isolierte Hefe No. 370 hat in der Sporenbildung ganz bedeutend nachgelassen. Die Frage, inwieweit es möglich ist, die einzelnen Hefen wieder in einen dem ursprünglichen Zustande annähernd gleichen zu versetzen, habe ich nicht weiter verfolgt.

Die Prüfung der alten Kulturen mittels der Jodjodkaliumlösung ergiebt ganz merkwürdige Resultate. Bei der einen Hefe ist fast der Inhalt einer jeden Zelle ganz oder stellenweise von der rotbraunen Färbung durchtränkt, bei anderen ist nur in ganz vereinzelten Fällen, bei noch anderen Hefen endlich nirgends etwas von einer Glykogenreaktion zu beobachten. Die 4 Monate alten Kulturen der Hefen Logos (van Laer) und der Hefen 370, 360, 350 (letztere aus gärendem Heidelbeersafte isoliert), sowie der Hefen unserer ober-

gärigen und untergärigen Betriebe sind reich an Glykogen führenden Zellen. Bei S. exiguus, Hefe No. 394 (Milchzucker vergärend), S. membranaefaciens färbten sich sämtliche Zellen nur gelb. Bei den Hefen der ersteren Gruppe sind die rotbraun gewordenen Zellen nicht immer die kräftigsten gewesen; es sahen manche Zellen oft so aus, als ob sie bis auf das Glykogen gänzlich ihres Inhaltes verlustig gegangen wären. In jungen Kulturen des S. exiguus blieb ebenfalls die Glykogenbildung aus, nicht so bei S. membranaefaciens, wo sie deutlich hervortrat. Eine besondere Ueberraschung brachte der Versuch mit dem Schizosaccharomyces octosporus. Hier zeigten sich die sporenführenden Zellen von einer außerordentlichen Empfindlichkeit gegen das Jod. Bevor die vegetativen Nachbarzellen kaum eine Spur Gelbfärbung erkennen ließen, trat in ihnen schon eine Blaufärbung auf. Insbesondere färbten sich die Sporenmembranen, es kam jedoch auch hin und wieder vor, daß ein Teil der Mutterzellmembran ebenfalls blau wurde. Bei reichlicherem Zusatze von Jod treten bei den Sporen, offenbar infolge des reichen Plasmagehaltes, Mischfarben auf, die ins Grünliche und schließlich ins Braune hinüberspielen. Eine erst 4 Wochen alte Gelatinekultur, welche überaus reich an den charakteristischen großen sporenführenden Zellen war, gab mit Jod überaus prächtige Bilder. Die an die Stärkereaktion erinnernde Blaufärbung ist bisher bei den Zellmembranen der Hefen nicht beobachtet worden, wohl aber bei einer Anzahl Discomyceten und Pyrenomyceten (z. B. Sordaria). Unlängst hat Hoffmann in unserem Laboratorium auch an einer Dematiumart die verschleimten Zellwände mit Jod sich bläuen sehen. Es lag die Vermutung nahe, daß Schizosaccharomyces Pombe, ebenfalls eine Spalthefe, möglicherweise dieselbe Erscheinung giebt. Das hat sich aber nicht bestätigt; auch bei Saccharomyces Ludwigii Hansen, der ja auch zu den vorigen in naher Beziehung steht, wurde nur eine Gelbfärbung mit Jod beobachtet. Nachdem Hansen gezeigt hat, daß zwei so nahe Verwandte wie Bacterium Pasteurianum und Bacterium aceti gegen Jod sich vollkommen unterschiedlich verhalten — ersteres färbt sich vorübergehend blau, letzteres gelb — hat unser Fall eigentlich nichts besonders Befremdendes mehr. Bemerkt sei noch, daß in 3tägigen Kulturen des Octosporus nur in den Zellen mit völlig entwickelten Sporen die Blaufärbung sich deutlich einstellte. — Mit einer gewissen Spannung habe ich die Einwirkung der Jodlösung auf die Sporen der verschiedenen Anomalusarten verfolgt; es trat aber überall nur Gelbfärbung ein.

In Bezug auf die Glykogenbildung möchte ich noch eine Beobachtung erwähnen, die sich allerdings nicht auf eine Hefe, sondern auf den von mir Sarcinomyces albus benannten Pilz bezieht. Die Zellen desselben aus älteren Gelatinekulturen waren überaus reichlich mit Glykogen versehen und gaben, zumal bei ihrer stattlichen Größe, mit Jod die Reaktion so prächtig, wie ich sie anderweitig bisher noch nicht beobachtet habe, vielleicht mit Ausnahme von tierischen Organismen, z. B. dem bekannten Essigälchen (Anguillula aceti).

Zusammenfassende Uebersichten.

Die Beziehungen der Mikroorganismen zum Tabakbau und zur Tabakfabrikation.

Sammelreferat
von
Dr. J. Behrens
in
Karlsruhe.

(Schluß.)

In der ersten Arbeit Schlösing's werden zunächst einige zur Beantwortung der Hauptfrage angestellte Versuche geschildert. Größere Quantitäten Schnupftabak vom üblichen Feuchtigkeitsgrad (ca. 30 Proz.) werden in Metallgefäße eingeführt, zum Teil bei 115—120° C unter dem Drucke einer Atmosphäre sterilisiert und dann Luft durchgeleitet, und zwar mittels eigens konstruierter Apparate durch alle Gefäße einer Versuchsreihe in der Zeiteinheit gleich viel Luft. Bei einem Teil der Versuche wird dem sterilisierten Tabak in einem Apparat nachträglich etwas fermentierender Schnupftabak beigemischt. Die eingetretene Fermentation wird in den Versuchsreihen, wo eine konstante Temperatur (40 oder 70°) angewandt wurde, gemessen durch die entwickelte Kohlensäure, in der Versuchsreihe, wo die Gefäße nur durch Einsenken in Sägemehl vor Wärmeabgabe geschützt wurden, durch die eintretende Selbsterwärmung. Im letzteren Versuche wurde die Entwickelung von Mikroorganismen in einem Teile der Tabakproben durch Chloroformdämpfe verhindert. Die Resultate der vier durchgeführten Versuchsreihen, die zum Teil mehr als 5 Monate dauerten, giebt Schlösing mit folgenden Schlußworten an: „La combustion lente qui s'accomplit dans les masses de tabac pour poudre commence à la température ordinaire sous l'influence dominante de ferments organisés. A partir d'une certaine température non encore exactement fixée, supérieure à 40°, inférieure à 70° et très probablement même à 50°, elle ne consiste plus qu'en une action purement chimique à laquelle les organismes vivants restent étrangers."

Der Beweis für diese Ansicht ist exakt geführt, im Falle wirklich, wie Schlösing angiebt, das 1$^1/_2$-stündige Erhitzen genügt hat, den sämtlichen Tabak (3,86—10 kg) der betreffenden Apparate zu sterilisieren. Im anderen Falle könnte immerhin die bei 70° stattfindende kräftige Fermentation auch auf der Thätigkeit thermophiler Bakterien beruhen, die bei dieser Temperatur das Optimum ihres Gedeihens fänden. Dem Ref. erscheint es nicht ganz zweifellos, ob durch die relativ kurze Erwärmung wirklich vollkommene Sterilisation erreicht ist.

In der Fortsetzung der Untersuchungen beschreibt Schlösing (2) weitere Versuche. Zunächst zeigte sich, daß die Kohlensäureentwickelung, also die Fermentation, ganz gleich stattfindet, ob man den zu fermentierenden Tabak (nicht sterilisiert) infiziert mit Schnupftabak

aus ganz verschiedenen Zonen eines fermentierenden Stockes oder nicht, natürlich bei gleicher Temperatur (36° C). Die Organismen, welche die Fermentation einleiten, müssen also im Tabak sehr gleichmäßig verteilt sein. Weitere Versuche behandeln die Frage der Fermentation bei verschieden hohen Temperaturen, und zwar wurden zunächst je eine sterilisierte (115°) und eine unsterilisierte Probe unter stetem Durchleiten von Luft bei 39, 70 und 80° gehalten. Es zeigte sich zunächst, daß die rein chemische Verbrennung (im sterilisierten Tabak) sich mit der Temperatur schnell steigert, und daß die Atmungs- und Gärungsthätigkeit der Mikroorganismen, welche zusammen mit der rein chemischen Verbrennung in der Kohlensäureproduktion der nicht sterilisierten Tabakproben ihren Ausdruck findet und bei 39° sehr bedeutend ist, bei 70° vollständig verschwindet. So beträgt die Kohlensäureproduktion, bezogen auf 1 kg trockenen Tabak und 24 Stunden, um einige Zahlen herauszugreifen, am 16. Tage bei 39° C für den sterilisierten Tabak 0,14 g, für den nicht sterilisierten 1,18 g, bei 70° dagegen für den ersteren 1,26 g, für den letzteren 1,16 g und bei 80° für ersteren 3,14 g, für letzteren 3,04 g. Immerhin ist auch hier unter der Annahme, daß die Sterilisation nicht genügt hätte, noch der Einwand möglich, daß bei 70 und 80° eben thermophile Bakterien thätig wären. Das ist aber, glaube ich, nicht der Fall bei dem letzten Versuche, der das Verhalten des (unsterilisierten) Tabaks bei einer konstanten Temperatur von 100° C zu Gegenstande hat. Bei dieser Wärme, bei der Organismenthätigkeit ohne weiteres ausgeschlossen ist, entwickelte der Tabak in der Zeiteinheit noch weit mehr Kohlensäure als bei 70 und 80° und, was das Wichtigste ist, er bekommt alle Eigenschaften guten Schnupftabaks, das Ziel der Gärung wird auch bei 100° vollständig erreicht, und zwar in weit kürzerer Zeit als bei 70 und 80°. Während die Reife bei 70° erst nach mindestens 2 Monaten eintrat, hatte die bei 100° gehaltene Probe schon in 10—12 Tagen alle physikalischen und chemischen Eigenschaften eines guten Schnupftabaks angenommen.

Nach Schlösing's Annahme beschränkt sich demgemäß die Rolle der Mikroorganismen bei der Fermentation des Schnupftabaks in der Praxis darauf, daß erst durch ihre Lebensthätigkeit die Temperatur des Tabaks auf jene Höhe gebracht werde, auf der sie allein zur Herbeiführung der gewünschten chemischen und physikalischen Veränderungen des Rohstoffes genüge.

Endlich in der letzten Arbeit (3) über den Einfluß des Umsetzens auf die Fermentation untersucht Schlösing den Gehalt der in den Tabakstöcken vorhandenen Luft an Sauerstoff und Kohlensäure und findet das Verhältnis derselben je nach den Umständen sehr variabel. Es zeigt sich, daß während der Gärung in den Tabakhaufen die Luft nicht stagniert, sondern daß ein stetiger, wenn auch langsamer Austausch zwischen der Binnenluft der Tabakhaufen und der äußeren Atmosphäre stattfindet. Der Gehalt der Binnenluft an Sauerstoff und Kohlensäure zusammen überstieg fast in allen Fällen (130 von 133) 21 Proz., den Gehalt der Atmosphäre an Sauerstoff, und stieg sogar bis auf 35 Proz. Es ist das ein sicherer Beweis für das Stattfinden einer Entwickelung von Kohlensäure aus der organischen Substanz ohne Mitwirkung freien Sauerstoffes, deutet also auf das Vorkommen

und die Thätigkeit anaërober Organismen im Tabak hin. Brennbare Gase, wie Wasserstoff oder Kohlenwasserstoffe, werden während der Fermentation nicht gebildet. Wenn der Gehalt der Binnenluft an Kohlensäure steigt, so nimmt der Sauerstoffgehalt ab und umgekehrt. Nach jedem Umsetzen, das ja gleichbedeutend ist mit einer Sauerstoffzufuhr, erhebt sich in kurzer Zeit die Kohlensäureproduktion und also auch die Intensität der Fermentation zu einem Maximum, um allmählich wieder zu sinken, wobei gleichzeitig infolge Diffusion der Außenluft der prozentische Gehalt der Binnenluft an Sauerstoff wieder steigt, der an Kohlensäure abnimmt. Sauerstoffzufuhr oder andere Umstände, die beim Umsetzen zur Wirkung gelangen, steigern also entschieden die Thätigkeit der Fermentationsorganismen, die demnach wohl nur fakultativ anaërob sind.

Von den letzteren hat Schlösing auch einige mit Hilfe von Peptongelatineplatten isoliert, einen Bacillus und einen Diplococcus, die er wenig eingehend beschreibt und abbildet. Sie sollen sich im fermentierenden Tabak in Unmasse finden. Ihr Wachstumsoptimum ist bei 35° C. Ob sie die Urheber der Fermentation sind, bleibt unentschieden.

Weit weniger Material liegt vor für die Frage nach den weit länger dauernden Gärungen in den Karottentabaken. Karotten werden in der Weise hergestellt, daß man aus einer größeren Menge von saucierten und noch feuchten Blättern ein Bündel bildet von der Form eines beiderends zugespitzten Cylinders, einer sog. Puppe, die in Leinen gehüllt und mit Bindfaden umschnürt wird. Dann wird die Karotte gepreßt und entsprechend stärker geschnürt, was eventuell mehrere Male wiederholt wird. Endlich läßt man die Karotten, wohl verpackt und vor Austrocknen geschützt, mehr oder minder lange lagern; selbst jahrelange Aufbewahrung schadet der Qualität nicht, verbessert sie im Gegenteil. Eine gute Karotte muß sich in der Mitte wie Speck schneiden, woraus man auf ihren Feuchtigkeitsgehalt (in einem vom Ref. bestimmten Falle 29,09 Proz.) schließen kann.

Daß Gärungen bei der Veredelung des Tabaks durch Karottieren eine Rolle spielen, ist wohl fragelos. Welcher Art dieselben sind, ist noch unbekannt. Behrens (5) kam durch verschiedene Umstände auf die Vermutung, es möge sich dabei, vielleicht neben anderen Gärungen, auch um eine alkoholische Gärung handeln. Dafür spricht einmal die Thatsache, daß Alkohol und alkoholische Flüssigkeiten einen häufigen Bestandteil der Schnupftabaksaucen bilden, ein Beweis, daß der Alkohol kein ganz gleichgiltiger Bestandteil eines Schnupftabaks ist. Andere Saucen enthalten regelmäßig Zuckerzusätze oder doch Zusätze von Fruchtsäften, Syrup, Honig und sonstigen gärfähigen Sachen. Vergl. Wagner (1) und Hermbstädt (1). Dazu kommt, daß auch der Zusatz von Weinhefe bei der Schnupftabakfabrikation häufig in Anwendung gebracht wird, wofür wieder auf die beiden genannten Autoren verwiesen werden mag. Es ist auch, wie Koller (1) und Wagner (1) übereinstimmend angeben, nicht gleichgiltig, was für eine Hefe, eine Bier- oder eine Weinhefe, man verwendet; Bierhefe verleiht dem Schnupftabak einen unangenehmen Geruch, was sich vielleicht dadurch erklärt, daß, wie bekannt, verschiedene Hefen in gleichen Kulturflüssigkeiten verschiedene Bouquetstoffe erzeugen.

In einer Karotte, welche Behrens untersuchte, wurde von den Produkten der alkoholischen Gärung des Zuckers Alkohol sicher nachgewiesen und das Vorkommen von Glycerin wenigstens wahrscheinlich gemacht. Von Organismen, welche Urheber der Alkoholgärung hätten sein können, wurde jedoch nur Mucor racemosus, keine Hefe gefunden, deren Keime jedoch nach späteren Beobachtungen auf grünen und trocknenden Tabakblättern — andere wurden nicht untersucht — gar nicht selten vorkommen. Derselbe Mucor entwickelte sich auch regelmäßig in Tabak, der mit Zuckerlösung durchtränkt und dann in Bechergläser eingepreßt wurde, um die Luft möglichst abzuschließen, und erregte hier ebenfalls alkoholische Gärung. Das läßt den Schluß auf ein allgemeines Zustandekommen alkoholischer Gärungen in Tabak, der mit zuckerhaltigen Saucen imprägniert ist, als nicht ganz aus der Luft gegriffen erscheinen.

Auch Miciol (1) hat in seinem Aufsatze das häufige Vorkommen von Mucorarten, die er mit Mucor Mucedo L. und M. flavidus Pers. identifiziert, auf Tabak, speziell auf Karotten und gärenden Schnupftabakstöcken, erwähnt. Eine Rolle bei der Gärung schreibt er den Pilzen nicht zu, hält sie überhaupt für harmlose Bewohner des Tabaks. Uebrigens läßt seine Schilderung, in der er das Mycel z. B. schildert als bestehend aus länglichen Zellen, die sich leicht vereinzeln, es mindestens als sehr fraglich erscheinen, ob er wirklich Mucorineen vor sich gehabt hat. Wie es scheint, hat er jedenfalls auch Pilze der Gattung Aspergillus mit jenen verwechselt. Auf Virginiablättern fand er einen Pilz, der nicht zur Fruktifikation zu bringen war, und der leider nicht näher beschrieben wird. Miciol fertigt ihn kurz ab unter der Annahme, er könne sehr wohl nur eine durch die eigentümliche Vorbehandlung des Virginiatabaks hervorgebrachte Varietät oder Modifikation des Mucor sein.

Die Fabrikation des Kautabaks scheint von der des Schnupftabaks nicht wesentlich abzuweichen. Zuckerhaltige Saucen spielen auch hier eine große Rolle.

Man sieht, in der Tabakindustrie ist ein nicht minder reiches Feld für gärungsphysiologische Studien vorhanden wie in anderen Gewerbszweigen, und ein bisher kaum angebautes. Mögen bald eingehendere Studien auch hier mehr Licht verbreiten. Sicherlich wird auch die Praxis von den Ergebnissen derselben reichen Gewinn haben.

Litteraturübersicht [1]).

Behrens, J. (1), Ueber ein bemerkenswertes Vorkommen und die Perithecien des Aspergillus fumigatus. (Centralblatt für Bakteriologie. und Parasitenkunde. Bd. XI. 1892. p. 335 f.)

— — (2), Ueber den Schwamm der Tabaksetzlinge. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. II. 1892. p. 327.)

— — (3), Trockene und nasse Fäule des Tabaks. Der „Dachbrand". (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. III. 1893. p. 82 ff.)

— — (4), Weitere Beiträge zur Kenntnis der Tabakpflanze. VII. Die Fermentation. (Die landw. Versuchsstationen. Bd. XLIII. 1893. p. 293 ff.)

— — (5), Weitere Beiträge etc. IX. Ueber Mikroorganismen des Tabaks nach der Ernte. (Die landw. Versuchsstationen. Bd. XLVI. 1895. p. 163 ff.)

1) Die mit einem * bezeichneten Arbeiten waren dem Referenten nicht zugänglich.

Belhomme (1), Recherches sur la fabrication de la poudre. [Influence du degré de mouillade des matières pour poudre.] (Mémorial des manufactures de l'état. T. I. p. 346.)
Breda de Haan, J. van (1), Voorloopig rapport over de Bibitziekte in de Tabak. Batavia-s'Gravenhage 1893.
— — (2), De Bibitziekte in de Deli-Tabak veroorzaakt door Phytophthora Nicotianae. (Mededeelingen uit s'Lands Plantentuin. XV.) Batavia-s'Gravenhage 1896.
Comes, O. (1), Mortalità delle piantine di tabacco nei semenzai cagionata da marciume della radice. (Atti del R. Istituto d'Incoraggiamento di Napoli. Serie 4 a. Vol. VI. Mem.a No. 2.) Napoli 1893.
Dávalos, J. N. (1), Notas sobre la fermentatión del tabaco. [Cronica médico-quirúrgica de la Habana. 1892. No. 15.] (Ref. in Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Bd. XIII. 1893. p. 390 ff.)
*De Toni, J. B. (1), La fermentazione delle foglie del tabacco. (Le stazione sperimentali italiane. 1891.)
— — (2), Parasiten auf Tabakblättern. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankheiten. Bd. II. 1892. p. 122.)
— — (3), Le malattie crittogamiche della pianta del tabacco. Padova 1891.
Fesca und Imai (1), Ueber Kultur, Behandlung und Zusammensetzung japanischer Tabake. (Landw. Jahrbücher. Bd. XVII. 1888. p. 329.)
Fries (1), Anleitung zum Tabaksbau und die Fermentation des Tabaks. Stuttgart 1856.
Hanausek, T. F. (1), Zur künstlichen Veredelung gewöhnlicher Tabaksorten. (Zeitschr. f. Nahrungsmitteluntersuchung und Hygiene. 1891. No. 10. S. 219.)
Hermbstädt, S. Fr. (1), Gründliche Anleitung zur Kultur der Tabakspflanzen und der Fabrikation des Rauch- und Schnupftabaks nach agronomischen, technischen und chemischen Grundsätzen. Berlin 1822.
Johnson, S. W. (1), Chemical changes in tobacco during fermentation. (Connecticut State Station Report for 1892. p. 28 ff.)
Kißling, R. (1), Der Tabak im Lichte der neuesten naturwissenschaftlichen Forschungen. Kurzgefaßtes Handbuch der Tabakkunde für Tabak-Bauer, -Händler und -Fabrikanten, sowie für Aerzte und Chemiker. Berlin 1893.
Klein, L. (1), Fünfter Bericht über die Thätigkeit der Großherzogl. Badischen landwirtschaftlich-botanischen Versuchsanstalt zu Karlsruhe in den Jahren 1888—1894 und (zum Teil) 1895. Karlsruhe 1896.
(Koch, A.) (1), Ueber die Edelfermentation des Tabaks (Patent Suchsland). Mitteilung der Firma Hermann Giesecke, Laboratorium für Reinkultur von Tabakbakterien.
Koller (1), Der Tabak in naturwissenschaftlicher, landwirtschaftlicher und technischer Beziehung. Augsburg 1858.
Mayer, Ad. (1), Ueber die Mosaikkrankheit des Tabaks. (Die landw. Versuchsstationen. Bd. XXXII. 1886. p. 451.
— — (2), Heilung der Mosaikkrankheit des Tabaks. (Die landw. Versuchsstationen. Bd. XXXV. 1888. p. 339.
Miciol (1), Note sur les végétations qui se développent pendant la fermentation du tabac. (Mémorial des manufactures de l'état. Tome II. Livr. 2. 1891. p. 182 ff.)
Migula, W. (1), Kritische Uebersicht derjenigen Pflanzenkrankheiten, welche angeblich durch Bakterien verursacht werden. Semarang 1892.
Müller-Thurgau, H. (1), Ueber das Verhalten von Stärke und Zucker in reifenden und trocknenden Tabaksblättern. (Landw. Jahrbücher. Bd. XIV. 1885. p. 485 ff.)
Münter, J. (1), Beitrag zur ferneren Begründung der Lehre vom Generationswechsel für die Gruppe der Pilze. [Bulletin du Congrès international de Botanique et d'horticulture etc. à Amsterdam 1865, Rotterdam 1866. Citiert im Berichte über Mykologie von Hoffmann. (Bot. Ztg. 1867. p. 62.)]
Neßler, J. (1), Der Tabak, seine Bestandteile und seine Behandlung. Mannheim 1867.
— — (2), Ueber das Schimmeln tierischer und pflanzlicher Stoffe, besonders des Tabaks. (Wochenblatt des landw. Vereins im Großherzogt. Baden. 1889. p. 635 ff.)
— — (3), Ueber Tabakbau. Vortrag, gehalten in der öffentlichen Versammlung für Tabakkultur zu Straßburg am 6. Juni 1890. (Sonderabdr. aus dem Jahrbuch der Deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft) Berlin 1890.
— — (4), Ueber den Bau und die Behandlung des Tabaks. [Anbauversuche und Untersuchungen der landwirtschaftlich-chemischen Versuchsanstalt Karlsruhe.] (Die landw. Versuchsstationen. Bd. XL. 1892. p. 395 ff)
Pinat et Grouvelle (1), Procédés usités à Châteauroux pour la fermentation en masses du tabac pour poudre. (Mémorial des manufactures de l'état. Tabacs. Tome II. Livr. 1. 1889. p. 13 ff.)

Prillieux et Delacroix (1), Maladies bacillaires de divers végétaux. (Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences. Tome CXVIII. Sem. I. Paris 1894. p. 668.)
Rabinowitsch, L. (1), Ueber die thermophilen Bakterien. (Zeitschrift für Hygiene. Bd. XX. 1895. p. 154 ff.)
Schlösing, Th. (1), Sur la fermentation en masses du tabac pour poudre. (Mémorial des manufactures de l'état. Tabacs. Tome I. 1884—1888. p. 514 ff.)
— — (2), Sur la fermentation etc. (Suite). (Ibid. Tome II. Livr. 2. 1889. p. 119 ff.)
— — (3), Contribution à l'étude de la fermentation du râpé. [Du rôle des transvasements.] (Ibid. Tome II. Livr. 2. 1891. p. 192 ff.)
Semler (1), Tropische Agrikultur. Der Tabak. Bd. III. Wismar 1888. p. 305 ff.
Sturgis, W. C. (1), Preliminary report on the so called „Pole-Burn" of tobacco. (Annual report of the Connecticut Agricultural Experiment Station for 1891. New Haven 1892. p. 168 ff.)
— — (1), Stem rot. (Annual report etc. for 1891. p. 184 ff.)
Suchsland, E. (1), Ueber Tabakfermentation. [Vorläufige Mitteilung.] (Berichte der Deutschen botanischen Gesellschaft. Bd. IX. 1891. p. 79 ff.)
— — (2), Ueber das Wesen der Tabaksfermentation und über die sich daraus ergebende Möglichkeit, den Fermentationsprozeß behufs Veredelung der Tabake zu beeinflussen. (Periodische Mitteilungen des Tabakvereins Mannheim. No. 38. 7. II. 1892. p. 203 ff.)
— — (3), Beobachtungen über die Selbsterwärmung des fermentierenden Tabaks. (Separatabzug aus der Festschrift der Latina zur zweihundertjährigen Jubelfeier der Universität Halle-Wittenberg. 1894.)
Tscherbatscheff, Woldemar (1), Der Tabak und seine Kultur in den nordamerikanischen Staaten, mit einer vollständigen Darstellung der Methode des Trocknens durch Feuer. [Auf Grund eigener Erfahrungen und der Erfahrungen der bekanntesten Tabakpflanzer der südlichen Staaten Nordamerikas.] (Landw. Jahrbücher. Bd. IV. 1875. p. 77 ff.
Vedrödi, Viktor (1), Zur Bestimmung des Nikotins und des Ammoniaks im Tabak. (Zeitschrift für analytische Chemie. Bd. XXXV. 1896. p. 309.)
von Wagner, L. (1), Tabakkultur, Tabak- und Cigarrenfabrikation. Weimar 1888.
W. C. C. (1), Tobacco disease. (Gard. Chron. Vol. IX. p. 173.)
W. G. S. (1), Tobacco disease. (Gard. Chron. Vol. IX. p. 211 [Fig. 49].)

Referate.

Sacharbekoff, M. P., K bakteriologii Petersburgskago moloka. (Zur Bakteriologie der Petersburger Milch.) [Aus dem klinischen Laboratorium des Prof. J. T. Tschudnowsky.] [Inaug.-Dissert.] 8⁰. 80 p. St. Petersburg 1895. [Russisch.]

Bekanntlich gehört die Milch zu den besten Nährsubstraten für pathogene und nicht pathogene Mikroorganismen. Die Zahl derselben in 1 ccm kann enorm sein und 10 000—100 000—1 000 000 und selbst noch mehr betragen, wenn die Bedingungen zu deren Wachstume günstige sind. Daraus resultiert, daß der Milchgenuß unter Umständen zur Infektion mit verschiedenen pathogenen Mikroorganismen führen kann, was man auch vielfach, besonders in England, beobachtet hat. Auf diese Weise sollen verschiedene Infektionskrankheiten, wie Typh. abdom., Scharlach, Diphtheritis, P. maligna, Klauenseuche, Tuberkulosis entstanden sein. Am gefährlichsten in dieser Hinsicht ist der Genuß der Milch perlsüchtiger Kühe. Die Verbreitung der Perlsucht unter dem Rindvieh ist in verschiedenen Gegenden eine

sehr verschiedene. Nebst Gegenden, wo dieselbe kaum in Betracht kommt, giebt es wieder Gegenden, wo 50 Proz. des gesamten Rindviehbestandes davon ergriffen sind. Im allgemeinen hat man beobachtet, daß in den Gegenden, wo die Perlsucht unter dem Rindvieh sehr verbreitet ist, auch die Menschentuberkulose sehr häufig vorzukommen pflegt. Schon daraus ergiebt sich die Wichtigkeit der bakteriologischen Milchuntersuchung und der damit im Zusammenhange stehenden sanitätspolizeilichen Maßregeln gegen die Ausbreitung der oben genannten Krankheit.

In verschiedenen europäischen Staaten (Deutschland, England) hat man sich vielfach mit Bakteriologie der Marktmilch beschäftigt, und es existiert daselbst eine ausgedehnte Litteratur über diesen Gegenstand. Auch sind dort verschiedene sanitätspolizeiliche Maßregeln in Anwendung gekommen, um der Gefahr der Ansteckung durch tuberkulöse Milch zu steuern. In Rußland wurde dieser Frage leider nur wenig Aufmerksamkeit geschenkt, und es existieren über dieselbe nur einige wenige Arbeiten, so z. B. die Arbeit der Kommission der Gesellschaft Odessaer Aerzte (Vorsitzender Prof. Verigo), ferner die von Prof. Bujwid (Warschau), Dr. Ilkewitsch (Moskau), von Dr. Knochenstiern und Dr. Gernhardt (beide in Dorpat). Petersburg ist in dieser Hinsicht zurückgeblieben; das hiesige städtische Laboratorium hat keine bakteriologische Abteilung. Verf. hat auf Prof. Tschudnowsky's Vorschlag die bakteriologische Untersuchung der Petersburger Marktmilch zum Gegenstande seiner Dissertation gemacht. Er hat dabei 2 Hauptfragen im Auge gehabt, und zwar:

1) die quantitative Bestimmung der in der Petersburger Milch enthaltenen Mikroorganismen und

2) hauptsächlich die Untersuchung der Petersburger Milch auf Tuberkelbacillen, und außerdem noch die qualitative Bestimmung der in derselben enthaltenen anderweitigen pathogenen Mikroorganismen.

Prof. Bujwid hat 16 Proben der den Warschauer Milchanstalten entnommenen Milch bakteriologisch untersucht und ist dabei zu folgenden Ergebnissen gelangt: 1) die Zahl der Mikroorganismen der Milch nimmt nach dem Melken beständig zu, um später, wenn die Milch bereits sauer geworden ist, abzunehmen; so fand er in 1 ccm Milch:

in 1 Falle	3 Stunden	nach dem Melken	100000	Keime
„ 2 Fällen	6 „	„ „ „	1495000	„
„ 3 „	24 „	„ „ „	2494000	„
„ 4 „	36 „	„ „ „	2500000	„
„ 4 „	2 Tage	„ „ „	385000	„

2) Die in der Milch gewöhnlich vorkommenden Mikroorganismen bilden auf Fleisch-Pepton-Gelatine Stoffwechselprodukte, die an den Geruch des faulen Fleisches erinnern, die Mikroorganismen der sauren Milch produzieren dagegen chemische Verbindungen, die an den Käsegeruch erinnern; diese Mikroorganismen bestehen hauptsächlich aus Oidium lactis.

Zu etwas anderen Ergebnissen kam Dr. Freudenreich in Bern, welcher fand, daß die Zahl der Mikroorganismen bei + 15° C mit der Zeit beständig zunahm (1 Stunde nach dem Melken 31750

Keime und 25 Stunden später 5000000), ferner fand derselbe, daß die Temperatur, bei der die Milch aufbewahrt wird, von großem Einflusse auf die Entwickelung von Mikroorganismen sei. Bei niedrigen Temperaturen geht das Wachstum derselben langsamer von statten. Nach ihm hängt die große Zahl der Mikroorganismen in der Milch mit der mangelhaften Methode der Milchgewinnung zusammen. Ferner entwickeln sich nach ihm zunächst die zufällig in die Milch gelangten Mikroorganismen, und erst viel später kommt es zur Entwickelung der als Milchfermente wirkenden Mikroorganismen; diese letzteren überwuchern durch ihr rasches Wachstum die übrigen Mikroorganismen, wobei die Plattenkulturen ein homogenes Aussehen erhalten. Der Säuregehalt der Milch erlaubt nach F. noch keinen Schluß auf die Zahl der Mikroorganismen. Große Mengen von Mikroorganismen in der Milch haben eine Zersetzung deren Bestandtheile zur Folge, wobei giftige chemische Produkte entstehen, und ist es einigen Forschern gelungen, aus der Milch einen toxischen Stoff — aus der Reihe der Ptomaïne, den man als Lactotoxin bezeichnet, und der, seiner physiologischen Wirkung nach, dem Muscarin nahesteht — auszuscheiden. Dieser Stoff erzeugt bei Menschen Verdauungsstörungen mit Neigung zum Collapsus und Stupor. Auf Tiere wirkt derselbe ebenfalls sehr stark und führt, in großen Dosen, den tödlichen Ausgang herbei. Man nimmt an, daß die Bildung dieses Stoffes von der Wirkung der Buttersäure und anderer Fettsäuren auf stickstoffhaltige Stoffe abhängt, und daß dazu eine Temperatur von + 21 ° R und mehr nötig ist. Die in der Milch vorkommenden Mikroorganismen stammen entweder direkt von der Kuh her, oder dieselben gelangen in die Milch nach dem Melken, wobei die Tuberkelbacillen perlsüchtiger Kühe die größte Gefahr bieten, namentlich wenn das Euter lokal affiziert ist. Nur in diesem letzteren Falle soll die Milch nach R. Koch's Meinung den Konsumenten gefährlich sein, und da die lokale Tuberkulose des Euters ziemlich selten vorkommt, so ist auch diese Gefahr sehr unbedeutend. Ganz andere Ansichten über diese Frage vertreten Bollinger und Bang. Ersterer und seine Schüler haben experimentell nachgewiesen, daß auch die Milch perlsüchtiger Kühe ohne lokale Läsion des Euters infizierend wirken kann, trotzdem daß man in derselben mikroskopisch meistens keine Tuberkelbacillen nachweisen kann. Daher plaidieren dieselben für Tierexperimente, da letztere viel sicherere Resultate ergeben. Ferner fanden die oben erwähnten Forscher, daß Magen- und Darmsaft giftig auf die Tuberkelbacillen wirken, und daß die Milch mehrerer Kühe zusammengegossen weniger nachteilig wirkt, als die einer einzigen (perlsüchtigen) Kuh, da die Ansteckungsgefahr im umgekehrten Verhältnisse mit der Milchverdünnung steht, was sie auch experimentell erwiesen haben. Auf Grund ihrer Versuche gelangen Bollinger und seine Schüler zu folgenden Schlüssen: 1) die Lymphdrüsen des Ileum und des Dickdarms werden bei Menschen und Tieren zuerst von Tuberkulose ergriffen, durch Ulceration dieser Drüsen gelangt das Gift in den Organismus; 2) die Tuberkelbacillen sind imstande, auch das intakte Epithel des Darmes zu passieren; 3) außer dem Hauptträger des Giftes, der Milch, kann die Tuberkulose auch durch

Milchprodukte, sowie durch Genuß von Fleisch perlsüchtiger Tiere hervorgerufen werden.

Bang in Kopenhagen hat die Milch von 23 Kühen mit deutlicher Eutertuberkulose untersucht, außerdem hat er zu seinen Experimenten die Milch von Kühen benutzt, die keine Affektion des Euters zeigten und ist zu folgenden Ergebnissen gekommen: 1) die Milch der Kühe, die an Eutertuberkulose leiden, enthält stets die Tuberkelbacillen und giebt bei Tierexperimenten stets positive Resultate; 2) die Milch perlsüchtiger Kühe ohne Lokalaffektion des Euters enthält sehr selten (von 28 Fällen nur 2mal) die Tuberkelbacillen, dasselbe gilt auch von tuberkulösen Frauen ohne Lokalaffektion der Brustdrüsen; 3) nicht nur heile Milch, sondern auch Sahne, abgerahmte, magere, centrifugierte, Buttermilch, erhalten aus saurer Milch, ergaben bei Tierexperimenten positive Resultate; 4) beim Centrifugieren der Milch sinken die Tuberkelbacillen, da dieselben spezifisch schwerer sind, zu Boden des Gefäßes, umsomehr, da dieselben in der Regel an den Lymphkörperchen haften; 5) beim Erwärmen bis + 85° C gehen die Tuberkelbacillen zu Grunde, schon bei + 70° C verlieren dieselben ihre Virulenz den Tieren gegenüber; 6) das Sauerwerden der Milch hat auf die Tuberkelbacillen keinen nachteiligen Einfluß. Auch andere Forscher haben in der Milch perlsüchtiger Kühe die Gegenwart von Tuberkelbacillen nachgewiesen.

Bei Sektionen von Kinderleichen findet man nicht selten nur eine lokale Darm- und Mesenterialdrüsentuberkulose ohne Affektion anderer Organe, da solche Kinder meistens in noch sehr zartem Alter (1—5 $^1/_2$ Jahre) standen, so ist man berechtigt, anzunehmen, daß hier die Tuberkulose infolge des Genusses der Milch perlsüchtiger Kühe entstanden war, da bekanntlich in diesem Alter die Kuhmilch die Hauptkost der Kinder bildet.

Tierexperimente (Fütterung, Einbringen tuberkulöser Stücke unter die Haut, Einspritzungen in die Peritonealhöhle), die mit Stückchen von Zitzen perlsüchtiger Kühe, sowie mit der Milch, die aus denselben gewonnen war, angestellt wurden, ergaben meistens (über 70 Proz.) positive Resultate. Auch dasselbe Material von scheinbar gesunden Kühen ergab zuweilen positive Resultate.

Die oben erwähnten pathologisch-anatomischen Thatsachen, sowie die klinische Erfahrung und das Tierexperiment sprechen für die Gefahr des Genusses der Milch perlsüchtiger Kühe. Man ist heutzutage darüber ziemlich einig, daß die Tuberkelbacillen das unversehrte Darmepithel passieren können; Läsionen resp. entzündliche Zustände der Darmschleimhaut sind dazu gar nicht nötig. Auch sind diese Mikroorganismen nicht im stande, einen entzündlichen Zustand der Darmschleimhaut hervorzurufen.

Scheurlen, der sich mit Verteilung von Mikroorganismen in Wasser und Milch bei ruhigem Stehen, sowie beim Centrifugieren beschäftigte, gelangt zu folgenden Ergebnissen:

1) Die Centrifugalkraft hat weder Einfluß auf die Lebensfähigkeit, noch auf die Virulenz der Mikroorganismen; 2) bewegliche und unbewegliche Mikroorganismen, mit Ausnahme von Proteus mirabilis und Vibrio cholerae asiaticae sinken zu Boden des Gefäßes beim Centrifugieren sowie beim ruhigen Stehen; 3) in der

Milch dagegen findet man den größten Teil von Mikroorganismen in den Rahmschichten und nur einen geringen Teil im Bodensatz, außerdem findet man dieselben in der abgerahmten Milch; 4) daraus folgt, daß die Milch mittels Centrifuge von ihrem Bakteriengehalt nicht befreit werden kann; 5) nur die Tuberkelbacillen allein sinken in großer Menge zu Boden, trotzdem findet man dieselben in der Rahmschicht, sowie in der abgerahmten Milch dennoch in ziemlicher Menge.

Aus diesen Versuchen kann man den Schluß ziehen, daß man die Milch von ihrem Bakteriengehalt mittels Centrifuge nicht befreien kann. Nach Schmidt-Mühlheim geschieht die Milchinfektion auf dreierlei Weise, und zwar: 1) Bei verschiedenen Krankheiten der Kühe; 2) infolge der Behandlung der Milch vor dem Verkaufe derselben und 3) im Hause des Konsumenten. Um dies zu verhindern, schlägt derselbe folgende Maßregeln vor: 1) skrupulöseste Reinlichkeit in der Haltung von Milchvieh und -Farmen nebst strenger tierärztlicher Aufsicht; in zweifelhaften Fällen Impfung dafür empfänglicher Tiere mit der verdächtigen Kühen entnommenen Milch (in großen Dosen); 2) Abkühlung der frisch gemolkenen Milch (durch Eis); 3) strenge polizeiliche Aufsicht; 4) Sterilisieren der Milch durch den Konsumenten selbst, unter Vermeidung des häufigen Uebergießens der Milch aus einem Gefäß in das andere und des Schüttelns derselben; 5) Einrichtung von Centralmilchanstalten, wie dieselben in verschiedenen großen Städten (Berlin, Düsseldorf, Leipzig, London, Amsterdam) bereits bestehen und 6) Versendung der Milch in hermetisch verschlossenen Flaschen, in denen dieselbe während eines Monats sich konservieren läßt, ohne Farbe und Geschmack zu verändern. Diese Ansichten werden auch von anderen Forschern geteilt.

Bitter, der mit dem sog. Pasteurisieren der Milch sich beschäftigte, sagt Folgendes: 1) die Milch spielt eine wichtige Rolle in der Vermittelung ansteckender Krankheiten; 10 Proz. aller Kühe, die das sog. Stallfutter erhalten, sind perlsüchtig und 50 Proz. der letzteren geben eine Milch, in der die Tuberkelbacillen enthalten sind; 3) chemische Mittel sind nicht imstande, die durch die Mikroorganismen veränderte Milch unschädlich zu machen; 4) das Gefrierenlassen der Milch verzögert zwar die Entwickelung von Mikroorganismen, hebt dieselbe aber nicht auf, da die Keime ihre Lebensfähigkeit dabei nicht einbüßen; 5) nur die mittels Dampf sterilisierte Milch giebt zuverlässige Resultate; 6) da die Temperatur, bei der die Milch zu sieden anfängt, nach Duclaux's und anderer Forscher Erfahrungen auf den Geschmack und Geruch derselben von Einfluß ist, so muß das Sterilisieren der Milch durch das Pasteurisieren, d. h. durch Anwendung verhältnismäßig niedriger Temperaturen (65—75 ^{0} C) ersetzt werden; die erwärmte Milch muß langsam abgekühlt werden, um die Wiederbelebung von Mikroorganismenkeimen beim Erkalten zu verhindern; 8) auf Grund seiner Versuche ist er zu dem Schluß gekommen, daß das Erwärmen der Milch bis 69 ^{0}, ja selbst bis 68 ^{0} C während 30 Minuten ganz hinreichend sei zum Sterilisieren von heiler Milch, da die abgerahmte Milch an Mikroorganismen reicher ist, so muß dieselbe bis 75 ^{0} C innerhalb $^1/_4$ Stunde erwärmt werden; 9) mit dem Pasteurisieren der Milch sollen sich die

Produzenten und nicht die Konsumenten beschäftigen, was besonders in hygienischer und finanzieller Beziehung wichtig ist; 10) eine gute Milch darf nicht mehr als 50000 Mikroorganismen pro 1 ccm enthalten. Ist deren Gehalt an denselben größer, so ist sie unbrauchbar. Diese Ansichten werden auch von vielen anderen Forschern geteilt. Nocard, auf den großen Prozentsatz perlsüchtiger Kühe in Frankreich aufmerksam machend, empfiehlt in zweifelhaften Fällen Tuberkulininjektionen zu machen, die nach seiner Ansicht mathematisch sicher wirken. Dieser Ansicht sind auch verschiedene andere Forscher, und ein diesbezüglicher Antrag wurde von dem internationalen hygienischen Kongreß in Budapest acceptiert.

Prof. Roux weist darauf hin, daß aus der sterilisierten Milch die Milchkügelchen beständig ausgeschieden werden und auf diese Weise der Gehalt der Milch an dem in derselben suspendierten Fette vermindert wird. Daher rät er, die Milch an dem Tage, an welchem dieselbe in Gebrauch kommt, zu sterilisieren, und das Sterilisieren selbst den Gesellschaften zur Wahrung der Volksgesundheit anzuvertrauen.

Ingenieur Bernstein schlägt vor, die Milch vor ihrem Transport per Eisenbahn bis 70° C zu erwärmen, weil 1) dabei der Rahm von der Milch infolge des Schüttelns nicht abgeschieden wird; 2) die Milch nicht säuert; 3) alle pathogenen Mikroorganismen abgetötet werden und 4) nach Abkühlung der Milchgeschmack nicht verändert wird. Außerdem schlägt derselbe vor, der Milch vor deren Gebrauch eine geringe Menge einer Reinkultur von Bacillus acidi lactici zuzusetzen, um auf diese Weise das Wachstum von pathogenen Mikroorganismen, und ferner, um einige nicht wünschenswerte Milchveränderungen, die von deren alkalischer Reaktion herrühren, zu verhindern.

Variot schlägt vor, die Milch durch reine Watte zu filtrieren, welche letztere die Mikroorganismen aufnimmt und auf diese Weise die Milchzersetzung bedeutend aufgehalten wird. Nach Flügge besteht die Hauptschwierigkeit des Milchsterilisierens in dem sehr widerstandsfähigen Heu- und Kartoffelbacillus und dem Mikroorganismus der Buttersäuregärung und nicht in Mikroorganismen der Milchsäuregärung und in pathogenen Mikroorganismen. Er empfiehlt die größte Reinlichkeit bei der Milchgewinnung und rät ferner, die Milch unmittelbar nach der letzteren zu centrifugieren, wobei der größte Teil der Mikroorganismen im Milchschlamm bleibt. Darauf soll die Milch sterilisiert werden, indem man dieselbe in Flaschen gießt und letztere in einen Dampfapparat stellt. Diese Methode hat in Dresden die besten Resultate ergeben.

In Kijew besteht seit 1893 die Gesellschaft zur Hilfe armer Kinder (verabfolgt den letzteren auf ärztliche Verordnung gratis sterilisierte Milch), die zum Sterilisieren der Milch den Apparat von Tedeschi (Padua) benutzt, wobei die Temperatur nicht mehr als 100° C beträgt und der Prozeß selbst 4 Stunden dauert. Laut Bericht von Dr. Troizky war die Thätigkeit der oben erwähnten Gesellschaft von großem Nutzen.

Verf. hat in dem Zeitraume vom 28. Mai bis 18. Oktober 1894 80 quantitative (bakteriologische) Untersuchungen der Petersburger Milch gemacht.

Im ganzen wurden untersucht 28 Proben von Marktmilch, 7 Proben der in die Wohnungen gelieferten (meistens von Milchfrauen, letztere verkaufen ihre Waren zum großen Teil aus zweiter Hand) Milch, 10 Proben Budenmilch (den Milchbuden entnommen), 9 Proben Farmenmilch (den relativ gut eingerichteten Milchanstalten entnommen, die ihren Milchbedarf von gewissen, außerhalb der Stadt gelegenen Farmen beziehen) und 22 Proben der sog. städtischen Milch (von den in der Stadt gehaltenen Kühen); diese letztere Milchsorte war in die städtische Sanitätsstation eingeliefert.

Bei seinen Untersuchungen verfuhr der Verf. folgendermaßen: Die zu untersuchende Milch wurde in die sterilisierten Erlenmeyer'schen Kolben gegossen, die in einem Kasten mittels eines besonderen Mechanismus befestigt waren; der freie Raum zwischen den Kolben war mit Eis ausgefüllt und der Kasten selbst mittels eines Deckels verschlossen. Mit diesen sterilisierten Kolben begab sich der Verf. am frühen Morgen (zwischen 9—10 Uhr) in verschiedene Stadtteile, um Milch zu kaufen. Die gekaufte Milch wurde mittels eines Trichters (Eigentum des Verkäufers) aus dessen Geschirren in die Erlenmeyer'schen Kolben gegossen, welche dann abgeschlossen und in den Kasten zurückgestellt wurden. Darauf fuhr er per Fiaker ins Laboratorium und machte dort sofort Plattenkulturen (nach Koch, modifiziert von Petri).

Die ersten Plattenkulturen mißlangen, woran wohl die von ihm zuerst angewandten Methoden die Hauptschuld trugen.

Zuletzt bediente sich der Verf. folgender Methode: Mittels einer graduierten Pipette, auf der 1 ccm in 100 gleiche Teile eingeteilt war, entnahm er 0,1 ccm Milch, vermischte dieselbe mit 1000 ccm destillierten sterilisierten Wassers. Dann wurde von dieser Mischung 1 ccm auf Gelatine geimpft und letztere zuletzt in Petrischalen gegossen; auf diese Weise enthielt die Gelatine 0,00001 der zu untersuchenden Milch. Diese Verdünnung erwies sich als ganz brauchbar. Dabei wurden alle Maßregeln ergriffen, um eine zufällige Milchinfektion zu verhindern. Die Milchimpfungen auf Gelatine und das Ausgießen der letzteren in die Petrischalen wurden in der Regel 1 Stunde nach der Entnahme von Milchproben gemacht. Von jeder Milchprobe wurden in der Regel 2—3 Plattenkulturen gemacht, da die Zahl der die Gelatine verdünnenden Kulturen eine sehr große war. Das Zählen der Kolonieen fand in der Regel mit Hilfe einer Lupe statt, wenn die Zahl der letzteren eine sehr große war, so bediente sich der Verf. des Wolffhügel'schen Apparates.

Aus seinen Untersuchungen zieht der Verf. folgende Schlüsse:

1) Während der Zeitperiode vom 27. Mai bis 24. August 1894 wurden 28 Proben Marktmilch, bezogen von allen Märkten Petersburgs, untersucht.

2) Die geringste Zahl der Mikroorganismen in 1 ccm = 2 400 000, die größte = 114 500 000, die Durchschnittszahl = 21 615 000.

3) Während der Zeitperiode vom 30. Mai bis 26. August wurden 10 Proben Budenmilch, meistens aus schmutzig gehaltenen Buden stammend, untersucht.

4) Die geringste Zahl der Mikroorganismen = 4 100 00, die größte = 115 300 000, die Durchschnittszahl = 32 660 000.

5) Während der Zeitperiode vom 27. Juli bis 23. August 1894 wurden 7 Milchproben untersucht, die von herumziehenden Händlern gekauft wurden; letztere, meistens Frauen, liefern ihre Ware in die Wohnungen.

6) Die geringste Zahl der Mikroorganismen in 1 ccm = 10 200000, die größte = 82 300000, die Durchschnittszahl = 33 357 000.

7) Während der Zeitperiode vom 18. August bis 11. Oktober wurden 9 Proben Farmenmilch untersucht.

8) Die geringste Zahl der Mikroorganismen in 1 ccm = 450000, die größte = 9 800 000, die Durchschnittszahl — 4 606 000.

9) Während der Zeitperiode vom 12. September bis 19. Oktober 1894 wurden 22 Proben der sog. städtischen Milch untersucht.

10) Die geringste Zahl der Mikroorganismen 1 ccm = 400 000; die größte = 7 500 000; die Durchschnittszahl = 1 789 000.

11) Auf diese Weise wurden während der Zeitperiode vom 27. Mai bis 18. Oktober 1894 76 Proben Kuhmilch untersucht, wobei die größte Zahl Mikroorganismen = 115 300 000; die geringste = 400 000 und die Durchschnittszahl (ungefähr) = 16 596 000.

Aus den Untersuchungen des Verf. ergiebt sich Folgendes: Die schlechteste Milchsorte ist die von den herumziehenden Händlern in die Wohnungen gelieferte Milch, dann die Budenmilch, die Marktmilch, die Farmmilch und die beste Sorte ist die sog. städtische Milch. Was den Gehalt der Milch an Bakterien betrifft, so nimmt Petersburg (115 300 000 als Maximum) die fünfte Stelle (in aufsteigender Richtung) ein. Die erste Stelle nimmt München (4 000 000 Max.) ein, die zweite Würzburg (7 535 000 Max.) und die siebente Gießen (169 632 000 Max.). Die Untersuchungen des Verf. ergaben den großen Gehalt der Petersburger Milch an Bakterien, was der Gesundheit der Bevölkerung jedenfalls sehr wenig zuträglich sein wird. Zur qualitativen Bestimmung von Mikroorganismen und speziell zum Nachweis von Tuberkelbacillen wählte der Verf. den Weg des Tierexperiments, da er die mikroskopischen Milchuntersuchungen für nicht zuverlässig hält. Zu diesem Zweck bediente er sich des Meerschweinchens (zwischen dem 45.—50. Tage mittels Chloroform getötet). Unmittelbar nach der Sektion wurden mikroskopische Präparate angefertigt und dann Impfungen auf Bouillon gemacht; diese letzteren wurden im Thermostaten bei 37° C aufbewahrt. Am 2. resp. 3. Tage wurden Plattenkulturen, je nach Bedürfnis, gemacht, wenn man bei Mischinfektionen von einander isolieren wollte, handelte es sich dagegen bloß um eine Species, so machte man direkte Impfungen auf Gelatine, Agar-Agar und Kartoffel. Im Notfalle wurden Kontrollversuche angestellt, um die pathogenen Eigenschaften der betreffenden Mikroorganismen festzustellen. Die Nährböden wurden vom Verf. selbst lege artis gemacht. Sektionsergebnisse, mikroskopische Untersuchungen von Kulturen auf verschiedenen Nährböden wurden in das Laboratoriumtagebuch eingetragen; auf Grund des letzteren wurden die Tabellen zusammengestellt, die die Ergebnisse von Versuchen an 80 Meerschweinchen enthalten.

Von den 80 zu Tierexperimenten benutzten Meerschweinchen erkrankten im ganzen 13. Außerdem ging noch ein 14. Meerschweinchen zu Grunde und zwar am 21. Tage nach der Impfung. Die Obduktion

ergab Folgendes: Peritonitis chronica, außerdem noch Knötchen in der Milz, der Leber und den Lungen. Bakterioskopische Untersuchung und Kulturversuche (bernsteingelbe Kulturen auf Kartoffel) gaben in diesem Falle Anlaß zur Annahme einer Rotzerkrankung. Doch wurde diese Annahme durch Kontrollversuche nicht bestätigt, was vielleicht mit der geringen Virulenz der betreffenden Kultur (bei Zimmertemperatur gehalten) zusammenhing. Im ganzen gingen 14 von 80 Meerschweinchen (17,5 Proz.) an Infektion mit 7 Species verschiedener Mikroorganismen zu Grunde und zwar: 4 mit Bacillus tuberculosis Koch (5,6338 Proz.), 3 mit Staphylococcus pyogenes aureus (3,75 Proz.), 2 an einer Mischinfektion von Staphylococcus pyog. aureus et Streptococcus Rosenbach (2,5 Proz.), 2 mit Bact. coli commune (2,5 Proz.), 1 mit Bac. pyogenes foetides Passet (1,25 Proz.), 1 mit Diplococcus lanceolatus Fraenkel (1,25 Proz.) und 1 mit Bacillus mallei? (1,25 Proz.). Außer oben genannten Mikroorganismen können in der Petersburger Milch gelegentlich auch andere pathogene Mikroorganismen vorkommen. Was speziell die städtische Milch betrifft, so enthält dieselbe in 9,18 Proz. Tuberkelbacillen. Dagegen der Prozentsatz 5,6338 Proz. bezieht sich auf die Gesamtmilch. Die oben angeführten Zahlen ergeben den hohen Prozentsatz von Mikroorganismen in der Petersburger Marktmilch. Außer diesen pathogenen Mikroorganismen kommen in der uns interessierenden Milch auch Saprophyten vor und zwar in sehr bedeutender Anzahl. Letztere vermögen die organischen Milchbestandteile unter Bildung von Toxinen zu zersetzen, die auf den Verdauungstractus der Konsumenten reizend wirken und verschiedene Erkrankungen desselben veranlassen. Und dies um so mehr, da der Prozeß des Sterilisierens dieselben nicht vernichten kann. Die sog. Kinderdurchfälle, an denen so viele jüngere Kinder (in Petersburg beträgt die Kindersterblichkeit bis zum fünften Lebensjahre 43 Proz.) zu Grunde gehen, sind wahrscheinlich den Stoffwechselprodukten der in der Milch enthaltenen Mikroorganismen zuzuschreiben. Auch die übrigen Mikroorganismen, von denen bereits oben die Rede war, können für den Organismus des Konsumenten nicht ganz indifferent sein, besonders gilt das vom kindlichen Organismus. Aus der Litteratur sind Fälle bekannt, wo kroupöse Pneumonieen entstanden sind infolge des Genusses von mit Diplococcus lanceolatus infizierter Milch. Auch die Eitererreger können unter Umständen leicht zu septischen Prozessen führen.

Auf Grund seiner Untersuchungen gelangt der Verf. zu folgenden Ergebnissen:

1) Die geringste Zahl von Mikroorganismen in 1 ccm der Petersburger Marktmilch = 2 400 000; die größte = 114 000 000; die Durchschnittszahl = 21 615 000.

2) Die geringste Zahl von Mikroorganismen in 1 ccm der Petersburger Budenmilch = 4 000 000; die größte = 115 300 000; die Durchschnittszahl = 32 660 000.

3) Die geringste Zahl von Mikroorganismen in 1 ccm der in Petersburg in die Wohnungen gelieferten Milch = 10 200 000; die größte = 82 300 000; die Durchschnittszahl = 36 357 000.

4) Die geringste Zahl von Mikroorganismen in 1 ccm Farmenmilch (den relativ gut eingerichteten, mit Eisvorrichtungen versehenen Anstalten entnommen) = 450000; die größte = 9800000; die Durchschnittszahl = 4606000.

5) Die geringste Zahl von Mikroorganismen in 1 ccm städtischer Milch = 400000; die größte = 7500000; die Durchschnittszahl = 1789000.

6) Die geringste Zahl von Mikroorganismen in 1 ccm Petersburger Marktmilch (im allgemeinen) = 400000; die größte = 115300000; die Durchschnittszahl = 16596000.

7) Die Petersburger Marktmilch enthält in 17,5 Proz. sämtlicher Fälle pathogene Mikroorganismen.

8) Der Prozentsatz der tuberkulösen Milch in Petersburg = 5,6338 Proz.

9) Die sog. städtische Milch ist in 9,18 Proz. tuberkulös.

10) Die Petersburger Marktmilch schadet ihren Konsumenten nicht allein durch den Gehalt an Toxinen, sondern dieselbe ist im stande, auch Infektion mit pathogenen Mikroorganismen (Tuberkelbacillen etc.) hervorzurufen.

11) Aus den Beobachtungen und Experimenten des Verf.'s ersieht man zur Evidenz, daß der Milchhandel in Petersburg einer gründlichen Reform bedarf, um die Stadtbevölkerung vor den durch den Milchgenuß hervorgerufenen Schäden zu schützen.

Am Schlusse seiner Arbeit bespricht der Verf. die Ursachen der Milchinfektion und die prophylaktischen Maßregeln zu deren Abwendung.

Die Milchinfektion entsteht durch folgende Ursachen:

1) Durch verschiedene Krankheiten der Milchkühe [illegible]: Perlsucht, Maul- und Klauenseuche, epidemische Lungen[illegible], Milzbrand etc.

2) Durch verschiedene Unreinlichkeiten, die der Kuh und besonders deren Euter anhaften können und zwar: Exkremente der Kuh selbst, Schmutz der Stallungen, schmutziges Futter etc.

3) Durch unreinliches Melken, vollzogen von unreinlichen und kranken Melkern.

4) Durch schmutzige Stallungen, die selbst den bescheidensten Ansprüchen der Hygiene nicht entsprechen.

5) Durch schmutzige Milchgeschirre.

6) Durch Aufbewahrung der Milch in den Wohnräumen bei Zimmertemperatur.

7) Durch verschiedene ansteckende Krankheiten der Menschen, die mit der Pflege von Melkkühen beschäftigt sind: Lungenschwindsucht, Typhus, Cholera, Scharlach, Diphtheritis etc.

8) Durch antihygienische Behandlung der Milch seitens der Produzenten, Zwischenhändler und Konsumenten.

9) Durch unzweckmäßigen Milchtransport in Holzgefäßen, nicht selten verschlossen mit schmutzigen Lappen.

10) Durch unreinliche Aufbewahrung der Milch in verschiedenen Viktualienhandlungen, auf Märkten, wobei die Geschirre sehr oft unverdeckt unter freiem Himmel stehen, so daß der Luftstaub und verschiedener Schmutz der Umgebung in dieselben geraten kann.

11) Durch Abmessen der Milch mittels schmutziger Krüge und Uebergießen derselben aus einem Geschirr in das andere mittels schmutziger Trichter.

12) Durch Abwesenheit von Kühlräumen an Orten der Milchgewinnung und besonders des Milchverkaufs.

Zur Abwendung dieser Mißstände schlägt er folgende Maßregeln vor:

1) Einrichtung von Mustermilchfarmen (zum Großbetriebe geeignet). Solche, nach allen Forderungen der Hygiene eingerichtete Anstalten müssen außerhalb des Stadtweichbildes liegen, unter beständiger sanitäts- resp. veterinärärztlicher Aufsicht stehen, ferner müssen dieselben alle Apparate zur Milchabkühlung und zum Sterilisieren nebst Centrifugen und Geschirren zur Milchaufbewahrung und zum Milchtransport besitzen.

2) Verbot der Einrichtung neuer Milchwirtschaften im Weichbilde der Stadt; antihygienisch eingerichtete alte Anstalten dieser Art müssen nach und nach geschlossen werden, um mit der Zeit alle Milchwirtschaften aus dem Weichbilde der Stadt zu entfernen.

3) Möglichst häufige Untersuchungen der Milchkühe auf Perlsucht. Diese Untersuchungen müssen hauptsächlich experimentellen Charakter haben.

4) In verdächtigen Fällen muß man zu Injektionen von Tuberkulin schreiten.

5) Der Genuß der Milch von an ansteckenden Krankheiten leidenden Kühen muß untersagt werden.

6) Der Typus eines städtischen Etablissements zum Milchhandel (Großbetrieb) muß ausgearbeitet und dann auch obligatorisch eingeführt werden. Derselbe muß mit allen erforderlichen Apparaten versehen sein und unter strenger sanitäts-polizeilicher Aufsicht stehen.

7) Der Milchverkauf in den Viktualienhandlungen, sowie deren Lieferungen in die Wohnungen müssen absolut verboten werden; was den Marktverkauf dieses Artikels betrifft, so kann derselbe nach Maßgabe der Einrichtung der sub Nr. 6 genannten Etablissements nach und nach verboten werden; diese letzteren würden mit der Zeit den primitiven Marktverkauf von selbst verdrängen.

8) Bei den städtischen Hospitälern müssen Kabinette zum Milchsterilisieren (wie in Kijew) eingerichtet werden, um den Kindern armer Eltern auf ärztliche Verordnungen sterilisierte Milch zu verabfolgen.

9) Bei der städtischen hygienischen Station muß eine spezielle Abteilung zur Versorgung der Kinder armer Eltern mit wohlfeiler sterilisierter Milch eingerichtet werden. Diese Versorgung könnte auch gratis, unter Mitwirkung wohlthätiger Gesellschaften, wie das in Amerika der Fall ist, geschehen.

10) Neue Gesetze zur Regulierung des Milchhandels, wie dies in Italien der Fall ist, müssen herausgegeben werden. Die Arbeit enthält zahlreiche Tabellen und ein ausführliches, die Frage betreffendes Litteraturverzeichnis (russischer und ausländischer Arbeiten).

v. Etlinger (St. Petersburg).

Duclaux, E., Das Gärvermögen und die Gärkraft der Hefe. [Eine kritische Uebersicht.] (Annales de l'Institut Pasteur. 1896. No. 2 und 3.) (Nach Wochenschrift für Brauerei. Bd. XIII. No. 29 und 30.)

Erste Abhandlung.

Da der Begriff des Gärvermögens, den Pasteur in die Wissenschaft eingeführt hat, häufig mit dem Begriffe der Gärkraft der Hefe, d. h. mit der Schnelligkeit der Gärung verwechselt wird, so legt Verf. die Unterschiede und Aehnlichkeiten der beiden Begriffe fest, ehe er an die Kritik der einschlägigen Abhandlungen geht.

Als Pasteur entdeckt hatte, daß alle Gärungen durch Lebewesen hervorgerufen werden, fiel ihm gleich im Anfange das Mißverhältnis zwischen dem Gewichte der zersetzten Materie und dem Gewichte des Fermentes selbst auf. Während ein Mensch, ein Hund, ein Vogel täglich nur $^1/_{30}$, $^1/_{25}$ bezw. $^1/_6$ ihres Körpergewichtes an Nahrung zu sich nehmen, giebt es Fermente, die das Zehn-, ja Hundertfache ihres Eigengewichtes an vergärbarer Substanz zersetzen. Gerade wegen dieses Mißverhältnisses, wegen der Zersetzungsfähigkeit, die dadurch bedingt ist, spielen die Mikroben im Haushalte der Natur ihre bedeutende Rolle. Unter dem Gärvermögen versteht man das Verhältnis zwischen dem Gewichte der zersetzten Substanz und dem Gewichte der Mikrobenzellen, die diese Zersetzung bewirkt haben.

Vielleicht hätte Pasteur den Begriff des Gärvermögens klarer gefaßt und dessen Einführung erleichtert durch folgende Definition: „Das Gärvermögen ist das Verhältnis der innerhalb 24 Stunden zersetzten Nahrung zum Gewichte des Fermentes.“ Bei Pasteur entsprach Gärvermögen dem mechanischen Begriffe der Arbeit: Um eine Tonne irgend einer Ware auf eine bestimmte Höhe zu heben, bedarf es stets der gleichen Arbeit; um eine gewisse Menge gärbarer Substanz zu zersetzen, so daß diese für die Mikroben nicht mehr nährungsfähig ist, bedarf es einer gewissen Arbeit, die unabhängig von der Zeit und abhängig ist von der Natur und den Eigenschaften des in Gärthätigkeit begriffenen Mikroben. Pasteur hat selbst gezeigt, daß das Gärvermögen keine unveränderliche Eigenschaft des betreffenden Fermentes ist. Dasselbe wird verschieden groß sein bei Anwendung verschiedener Bedingungen.

Bei der Bierhefe z. B. hängt das Gärvermögen in hohem Maße von der Gegenwart oder Abwesenheit von Sauerstoff ab, was die folgenden Beispiele beweisen:

Sät man eine Spur Hefe in ein flaches Gefäß mit Nährlösung und Zucker, und unterbricht man den Versuch nach den ersten Stunden, sobald die Hefe eine sichtbare und wägbare Vermehrung zeigt und die Hefezellen noch nicht Gelegenheit hatten, einander den Sauerstoff wegzunehmen, so finden wir unter diesen Bedingungen das Gewicht der gebildeten Hefe, ungefähr ein Viertel von dem Gewicht des vergorenen Zuckers: das Gärvermögen der Hefe ist demnach gleich 4.

Wenn nach ca. 48 Stunden aller Zucker verschwunden ist, wird die Hefenmenge größer, aber doch nur $^1/_8$ vom Gewichte des vergorenen Zuckers sein: das Gärvermögen unter diesen Umständen ist gleich 8.

Man stelle nun denselben Versuch anstatt in einer flachen Schale, an deren Oberfläche sich die Luft leicht erneuert, in einer tiefen Flasche an, in der die Flüssigkeit nur eine geringe Höhe hat und über der Flüssigkeit ein verhältnismäßig großes, aber begrenztes Luftvolumen lagert. In diesem Falle wird das Gärvermögen 20—25 sein. Füllt man die Flasche zur Hälfte, so steigt das Gärvermögen auf 75. Füllt man die Flasche ganz, so steigt das Gärvermögen auf 90.

Ist dagegen zur Zeit der Hefenaussaat auch noch die Gärflüssigkeit frei von Sauerstoff, so erhöht sich das Gärvermögen auf 175 bis 200.

Hieraus geht deutlich hervor, daß die Hefe um so mehr Zucker zersetzt, je weniger Sauerstoff ihr zur Verfügung steht.

Pasteur hat diese Erkenntnis zum Ausgangspunkte für eine Theorie der Gärung genommen. Auch für die Praxis ist diese Erkenntnis wichtig. Der Hefefabrikant will aus möglichst wenig Zucker möglichst viel Hefe gewinnen, er muß also energisch lüften. Der Brauer hingegen will Alkohol machen, muß also die Lüftung beschränken.

Bei der Erläuterung des Begriffes „Gärvermögen" hat man auch die Menge des gebildeten Alkohols und die Zersetzung, welcher der Zucker unterliegt, in Betracht zu ziehen. Bei der Berührung mit Luft wird der größte Teil des Zuckers zu Kohlensäure und Wasser, der Rest zu Kohlensäure und Alkohol verbrannt, für die Hefe unverwendbar gemacht.

Je weniger die Hefe das Nährmaterial ausnutzt, also je mehr Alkohol gebildet wird, desto größer muß die Menge der aufgenommenen Nahrung sein, desto größer auch das Gärvermögen. Die gebildete Alkoholmenge ist umgekehrt proportional der zugeführten Luft. Ist diese gleich Null, so unterliegt der ganze Zucker der alkoholischen Gärung und das Gärvermögen ist am größten. Letzteres hängt also nicht nur von der Menge der zersetzten Substanz, sondern auch von der Art der Zersetzungsprodukte ab.

Ferner hat man bei dem Begriffe des Gärvermögens noch die Zeit in Betracht zu ziehen.

Die Hefe brauchte in der flachen Schale bei freiem Luftzutritte 24 Stunden, um das 4-fache ihres Gewichtes an Zucker zu zersetzen. Die Hefe brauchte 3 Monate, um bei vollständigem Luftabschlusse das 175-fache ihres Gewichtes an Zucker zu zersetzen, d. h. die Hefe zersetzte täglich das Doppelte ihres Gewichtes an Zucker. Bei Gegenwart von Sauerstoff ist die Aktivität der Zersetzung groß, das Gärvermögen klein; bei Abwesenheit von Sauerstoff ist es umgekehrt. Der Begriff der Gärkraft einer Hefe ist einfacher als der des Gärvermögens; zwischen beiden Begriffen besteht derselbe Zusammenhang wie zwischen Schnelligkeit und dem durchlaufenen Raume: Gärkraft einer Hefe sei die Menge Zucker, welche von der Gewichtseinheit der Hefe in der Zeiteinheit zersetzt werde. Die Menge Zucker, die während der Zeit t von einer Hefenmenge l zersetzt wird, ist $a\ l\ t$, wobei a die Gärkraft der Hefe bedeutet. Die Hefenmenge l ist ungefähr ein Drittel der Hefenernte, wenn bei der Gärung hinreichend Sauerstoff vorhanden war. Zu der Zuckermenge $a\ l\ t$ kommt noch diejenige, welche, in Verbindung mit Nährsalzen etc., nötig war zum

Aufbau der Hefenmenge l. Diese ist gleich m l, wobei m immer in der Nähe von 1 liegt. Also ist die zersetzte Zuckermenge

$$S = m\,l + a\,l\,t.$$

Da als Gärvermögen das Verhältnis des zersetzten Zuckers zur Hefenmenge bezeichnet wurde, so ist das Gärvermögen

$$p = \frac{S}{l} = m + a\,t.$$

Diese Gleichung stimmt mit der mechanischen Bewegungsgleichung überein. Das Gärvermögen ist ein komplexerer Begriff als die Gärkraft der Hefe, es ist von dieser und von der Zeit abhängig. Wenn a schwach und t groß ist, wie bei der Gärung bei Luftabschluß, so ist die Menge des zur Lebensunterhaltung verbrauchten Zuckers groß; wird a größer und t kleiner, wie bei Luftzutritt, so ist die entsprechende Zuckermenge klein. Im zweiten Falle jedoch wird der Zucker besser ausgenutzt, während im ersten Falle die Hälfte als Alkohol übrig bleibt. — Der Zutritt von Sauerstoff erhöht die protoplasmatische Kraft, vermehrt also den Appetit der Hefe. Während also das anaërobe Leben einen vermehrten Verbrauch von Zucker infolge der schlechten Ausnützung desselben hervorruft, erzeugt der Luftzutritt eine Erhöhung der Zuckerzersetzung durch größere Lebenskraft. Um a und m zu messen, müßten genaue Versuche angestellt werden, wo alles konstant bliebe mit Ausnahme der Zeit. Aus den Versuchen von Pasteur, welche nicht für diesen Zweck angestellt wurden, kann man einige Schlüsse ziehen. Im Falle des absolut aëroben Lebens war nach 24 Stunden das Gärvermögen $= 4 = m + a$. Dieser Wert wäre kleiner geworden, wenn man den Versuch früher unterbrochen hätte. Die Werte von m und a wären nahezu 1 geworden.

Die Maximalwerte sind sicher $a = 2$ und $m = 2$.

Für die anaërobe Gärung war $p = 175 = m + 90\,a$.

Für $m = 2$ ist $a = 1{,}9$. Die beiden Werte für a in diesen beiden extremen Fällen liegen also sehr nahe bei einander. Wenn man eine einzige Hefenzelle in dem Augenblicke, wann sie ihre erste Sprossung vollendet hätte, wiegen und den zur Sprossung nötigen Zucker bestimmen könnte, so fände man vielleicht das Gewicht des Sprosses gleich der verbrauchten Zuckermenge. In diesem Falle wäre $m = 1$ und $t = 0$, da sein selbständiges Leben erst beginnt.

Dagegen ist in der Gleichtung $175 = m + 90\,a$ der Wert von m gegenüber 175 nur klein und kann vernachlässigt werden.

Aus den vorstehenden Zahlen geht noch der Schluß hervor, daß bei der Gärung Wärme frei wird. Zwar scheint nach Berthelot (Compt. rend. 3. 2. 79) bei der Umwandlung von m l Zucker in l Hefe Wärme gebunden zu werden; doch wird beim Verbrauche des Unterhaltungszuckers durch die Hefe Wärme frei, viel beim aëroben, wenig beim anaëroben Leben der Hefe. Da nun der Unterhaltungszucker den entsprechenden Aufbauzucker stets übertrifft, so ist die Gesamtreaktion exothermisch.

Die hier auseinandergesetzten Begriffe sollen nun kritisch auf die über das Gärvermögen der Hefe handelnden Arbeiten angewendet werden.

Zweite Abhandlung.

I.

Man sieht aus den vorhergehenden Betrachtungen, daß der Vorgang der Gärung recht verwickelt ist. Im allgemeinen kann man sich denselben folgendermaßen vorstellen. Man hat in eine zuckerhaltige Nährflüssigkeit eine ganz kleine Menge Hefe eingeimpft. Diese wird sich vermehren. Berücksichtigt man nur die Gewichtsveränderungen, so sieht man, daß sich im Anfang die Hefe rasch vermehrt, dann langsamer mit der Abnahme in der Lösung enthaltenen Sauerstoffes. Im Augenblick, in dem die Hefe in der Sprossung nachläßt, ist noch viel Zucker in der Flüssigkeit; dieser verschwindet allmählich, ohne daß sich eine merkliche Menge neuer Hefezellen bildet. Dann tritt eine allmähliche Schwächung der Hefezellen ein, das Hefengewicht vermindert sich. Es giebt also ein Höchstgewicht an Hefe in einer gärenden Flüssigkeit. Dieser liegt um so näher am Ende der Gärung, je weniger Zucker und je mehr Hefe vorhanden ist. Der Höchstbetrag an Hefe kann sich auch eventuell nach Beendigung der Gärung bilden. Jedenfalls beweist die Menge der Hefe, die man am Ende einer Gärung unter gewöhnlichen Bedingungen findet, a priori nichts für die Höchstmenge an Hefe, die in Thätigkeit getreten ist.

Bei der Betrachtung der Gärkraft, d. h. der Menge Zucker, welche die Hefeeinheit in der Zeiteinheit zersetzt, findet man, daß sie sich je nach den Versuchsbedingungen ändert. Bei Luftzutritt ist sie sehr groß und zeichnet sich durch reichliche Zellvermehrung aus. Die Hefe wächst als Pflanze, und ein Teil des Zuckers findet sich wieder als lebende Zellen.

Fehlt der Sauerstoff, so sproßt sie fast gar nicht mehr; das Nährmaterial dient nicht zur Vermehrung, sondern nur zur Ernährung der Zellen. Unter diesen Bedingungen wirkt die Hefe als Ferment, indem sie reichlich Nährmaterial angreift, aber nicht ausnutzt.

Das erste Stadium ist das der Gewebebildung und des Aufbaues des Lebewesens, das zweite Stadium ist die Periode der Unterhaltung ohne Gewichtszunahme unter dem Einflusse des protoplasmatischen Lebens. Diese beiden Prozesse laufen in Wirklichkeit stets nebeneinander her. Entgegen Cl. Bernard, der in seinen „Vorlesungen über die den Pflanzen und Tieren gemeinsamen Lebensvorgänge" die Erscheinungen der Lebensschöpfung als physiologischer Natur, die Todeserscheinungen als physikochemischer Natur auffaßt, welche aufeinander folgen, vertritt Verf. die Ansicht, daß diese beiden Phasen des Lebensaktes nicht voneinander trennbar sind. Selbst wenn die Hefe nur mit dem Aufbau neuer Zellen beschäftigt scheint, so atmet ihr Plasma doch. Wenn andererseits die Hefe sich nur mit der Unterhaltung der bereits gebildeten Zellen und nicht mehr mit der Vermehrung zu beschäftigen scheint, so sieht man doch bei genauerer Beobachtung, daß noch Gewebebildung stattfindet: alte Zellen werden schwach auf Kosten junger oder neuer Sprossungen. Das Höchstgewicht der Hefe ist erreicht, wenn das Gesamtgewicht der neugebildeten Hefe die Einbuße an Gewicht infolge der Erschöpfung und Auflösung der alten Zellen kompensiert. Später, wenn die Zellen geschwächt und entleert sind, nimmt die Hefe wieder ein konstantes Gewicht an, welches sich in der Flüssigkeit in Jahren nicht ändert.

II.

Die Arbeiten von Ad. Brown über den Einfluß des Sauerstoffes auf die alkoholische Gärung (Transactions of the Institute of Brewing. 1892. p. 369) und über den speziellen Fermentativcharakter der Hefezellen (Journal of the Chemical Society. 1894. p. 911) sollten dazu dienen Pasteur's Gärungstheorie zu widerlegen. Es giebt aber verschiedene Zahlen in ihnen, die, richtig ausgelegt, die vorstehend entwickelten Ansichten bestätigen und denjenigen Brown's zuwiderlaufen. Von den drei Versuchsreihen, welche Duclaux kritisch beleuchtet, sei hier die zweite angeführt.

Brown brachte in 5 Flaschen je 100 ccm Hefenwasser und der Reihe nach 2,5, 5, 10, 15 und 30 g Rohrzucker; die Zuckerlösungen wurden mit etwas Hefe geimpft und in Flaschen mit einem Wattepfropfen verschlossen. Nach Beendigung der Gärung wurden sämtliche Gärungen geprüft, außer der letzten, die man unterbrach und prüfte, als noch ca. 5 g Zucker vorhanden waren. Man stellte das Hefengewicht fest, ferner die relative Zahl der Zellen und erhielt auf diese Weise die nötigen Daten zur Berechnung des Gärvermögens. Die Versuche hatten folgendes Ergebnis:

Nummer	Gärdauer Tage	Vergorener Zucker	Gewicht der Hefe g	Zahl der Hefezellen	Gärvermögen	Gärkraft (von Duclaux berechnet)
1	5	2,5	0,124	8,51	20,2	—
2	5	5,0	0,155	9,94	32,0	—
3	7	10,0	0,177	10,44	56,0	8
4	12	20,0	0,140	11,17	143,0	12
5	20	25,2	0,138	12,26	182,0	9

Die Gärungen in einer 2,5-proz. Zuckerlösung und in einem 30-proz. Syrup sind nicht vergleichbar mit einander, wie Brown annimmt. Am Anfang ist die Konzentration, am Ende der Gärung die Alkoholmenge zu verschieden.

Im allgemeinen sieht man aber, daß das Hefengewicht nicht mit dem Zuckergewicht steigt, was nach den früheren Erörterungen nicht wunderlich ist.

Ferner sieht man, daß das Höchstgewicht an Hefe in einer 10-proz. Zuckerlösung am nächsten beim Endpunkt der Gärung liegt; trotz der Verminderung des Hefengewichtes bei den Versuchen 4 und 5 sieht man, daß die Zahl der Hefezellen in den verschiedenen Flaschen wächst; man kann hieraus schließen, daß sie bei diesen Versuchen erschöpfter sind als bei den anderen Versuchen. Trotzdem wächst das Gärvermögen, weil die Gärdauer zunimmt.

Da die Versuche nicht direkt vergleichbar sind, soll m in der Gleichung

$$p = m + at$$

vernachlässigt werden, und zwar in den Versuchen 3, 4 und 5, weil hier das Gärvermögen so hoch ist, daß m vernachlässigt werden kann. $a = p : t$ giebt die Gärkraft, wie sie in der letzten Spalte der Tabelle angegeben ist. Man sieht, daß sie ungefähr dieselbe ist; die Unterschiede lassen sich leicht auf die verschiedenen Versuchsbedingungen

zurückführen. In den Brown'schen Versuchen ist also nichts, was mit der Theorie im Widerspruch stände, die Brown bekämpft.

III.

Giltay und Aberson (Pringsheim's Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik. Bd. XXVI. p. 543) stellten sich die Aufgabe, die Atmung mittels freien Sauerstoffes und die Atmung mittels gebundenen Sauerstoffes quantitativ festzulegen. Duclaux setzt eingehend auseinander, daß dieser Aufgabe sich große Schwierigkeiten entgegenstellen, selbst wenn man die ideale Gleichung:

$$C_6H_{12}O_6 = 2\,C_2H_6O + CO_2$$

gelten lassen wollte. Die Schwierigkeiten werden im hohen Grade vergrößert dadurch, daß bei der Gärung auch Glycerin- und Bernsteinsäure gebildet wird, daß sie bei der Selbstgärung der Hefe etwas Alkohol bildet etc., Umstände, deren Vernachlässigung nicht statthaft sei.

Unter den praktischen Schwierigkeiten liege die bedeutendste Fehlerquelle in der Bestimmung des Alkohols. Diese und andere Fehlerquellen seien nur ungenügend vermieden oder schlecht erkannt.

Die übrigens gewissenhafte Arbeit von Giltay und Aberson zeigt auch einige auffallende Einzelheiten. So z. B. fragen sie, ob der Anteil Zucker, der vollkommen verbrannte, als solcher verbrannte, oder ob er vorher das Alkoholstadium durchgemacht habe. Zur Entscheidung dieser Frage brachten sie Hefe in 1—2-proz. Alkohol und leiteten Luft hindurch. Es ergab sich, daß in 2 Versuchen 14,9 resp. 38,4 Proz. Alkohol verschwunden war. In gleicher Weise fanden sie, daß die Kalivorlagen Gewichtszunahmen zeigten, die ungefähr der Menge Kohlensäure entspricht, welche bei vollkommener Verbrennung des Alkohols hätte entstehen müssen. Sie schließen daraus, daß die Hefe den Alkohol unter diesen Bedingungen verbrennt. Diese Thatsache wäre von der hervorragendsten Wichtigkeit, wenn sie zutreffend wäre. Aber die Verf. haben sich noch nicht einmal die Frage vorgelegt, ob der Alkoholverlust und die Gewichtszunahme in den Kaliapparaten nicht von dem durch den Luftstrom mitgerissenen Alkohol herrührt.

Bei ihren Untersuchungen haben die Verf. gefunden, was zu erwarten war. Z. B. haben sie gefunden, daß das Gärvermögen bei Luftabschluß größer ist als bei Luftzutritt; daß die Zuckermenge, die mehr oder weniger vollkommen verbrannt wurde, bei Luftzutritt größer ist. Außer diesen bekannten, finden sich noch einige neue Thatsachen. Aberson und Giltay haben Gärungen mit einander verglichen, von denen die einen gleich nach der Einführung mit Luft und wechselnden Mengen Sauerstoff behandelt, die anderen sich selbst überlassen wurden.

Unglücklicherweise sind die Versuche an verschiedenen Tagen angestellt, so daß sie weniger vergleichbar sind, als wenn sie an demselben Tage angestellt wären. Im allgemeinen sieht man jedoch, daß die Menge Kohlensäure, die über die gebildete Menge Alkohol hinausgeht und die aus der vollkommenen Verbrennung des Zuckers herrührt, nicht sehr schwankt, möge die Luft 20, 50 oder 100 Proz. Sauerstoff enthalten haben. D. h. das Verbrennungsvermögen der Hefe ändert sich nur wenig mit dem dargebotenen Sauerstoff. Bereits Schützen-

berger hatte beobachtet (Les Fermentations. Paris, Alcan, p. 151), daß die Menge Sauerstoff, den die Hefeneinheit in der Zeiteinheit in Kohlensäure umwandelt, nicht von dem Sauerstoffreichtum des Mediums abhängt, in dem die Hefe atmet. Auch der Sauerstoffgehalt des Protoplasmas wird durch den zugeführten Sauerstoffgehalt nicht entsprechend erhöht. Jede Hefe scheint in dieser Beziehung besondere Eigenschaften zu besitzen. Die von Duclaux entdeckte Laktosehefe führt ein fast anaërobes Leben und liefert in gelüfteten Würzen fast ausschließlich Alkohol und Kohlensäure.

Im Ganzen befinden sich Giltay und Aberson im Einklang mit den Pasteur'schen Ansichten.

IV.

Hansen und Petersen ziehen folgenden Schluß: Wenn die Lüftung die Schnelligkeit der Hefenvermehrung erhöht, vermindert sie deren Gärvermögen. Sie bestimmen den Zuckerverlust aus dem spezifischen Gewicht der vergorenen Flüssigkeit und zählen die Hefezellen. Man kann annehmen, daß in einer nährstoffreichen Flüssigkeit das Hefengewicht ungefähr proportional ist der Anzahl der Hefezellen.

Versuch 1 gab:				Zuckergehalt in A und B derselbe, in Versuch 1 und 2 verschieden von einander.
A. nicht gelüftet	nach 72 Stunden	11,2-fache Vermehrung der Hefe		
B. gelüftet	„ 48 „	23,4 „ „ „ „		
Versuch 2 gab:				
A. nicht gelüftet	nach 48 Stunden	7,3-fache Vermehrung der Hefe		
B. gelüftet	„ 36 „	14,5 „ „ „ „		

Aus den Zahlen geht hervor, daß nach Pasteur's Definition das Gärvermögen, also das Gewicht des vergorenen Zuckers dividiert durch das Gewicht der Hefe, in der gelüfteten Lösung geringer ist als in der ungelüfteten. Um die Gärkraft zu bestimmen, muß aber noch die Zeit in Rechnung gezogen werden. Nennen wir in Versuch 1 S die Menge des vergorenen Zuckers, l und l' die Hefenmenge, a und a' die Gärkraft in 3 und 2 Tagen, respektive in der ungelüfteten und gelüfteten Lösung, so haben wir:

$$S = ml + 3\,al,$$
$$S = ml' + 2\,a'l'$$

und da ungefähr $l' = 2\,l$ ist, so folgt:

$$S = 2\,ml + 4\,a'l.$$

Hieraus ergiebt sich:

$$ml + 3\,al = 2\,ml + 4\,a'l,$$
$$m + 3\,a = 2\,m + 4\,a',$$
$$3\,a = m + 4\,a'.$$

Beim 2. Versuche erhält man:

$$2\,a = m + 3\,a'.$$

Man darf diese beiden Gleichungen nicht kombinieren, um daraus die Werte für a, a' und m zu bestimmen, denn die beiden Versuchsgruppen sind untereinander nicht vergleichbar.

Aber die beiden Versuche einer jeden Gruppe sind mit einander vergleichbar, und man sieht, daß in jeder Gleichung, welchen Wert man auch m beilegen mag, a größer als a' ist, was zum Schluß führt, daß die Gärkraft der Hefe, d. h. die Zuckermenge, welche die Hefeneinheit in der Zeiteinheit zerlegt, bei Gegenwart von Luft in der That geringer ist, unter sonst gleichen Bedingungen, als in Abwesenheit von Luft.

Verf. glaubt, daß mit der richtigen Erkenntnis der Lebensbedingungen der Hefe auch der Widerspruch gegen die Pasteurschen Ansichten aufhören wird. Hoffmann (Berlin).

Beyerinck, M. W., Ueber Gallbildung und Generationswechsel bei Cynips calicis und die Circulansgalle. (Verh. d. Kgl. Akad. van Wetenschappen te Amsterdam. II. Sect. Deel V. No. 2. 43 p. Mit 3 Taf.) Amsterdam (Joh. Müller) 1896.

Einleitung und Uebersicht. Die „Knoppern" der Stieleiche sind durch ihren morphologischen Bau, der in charakteristischer Weise dem der in der Cupula eingeschlossenen Eichel entspricht, und durch ihre Entwickelungsgeschichte von besonderem Interesse. Cynips calicis, die Urheberwespe dieser Galle, lebt in einer zweiten Generation (Andricus cerri) auf Quercus cerri. Es ist dies der erste Fall von Heterogenesis, der bei einer Cynipsart (Cynips von Andricus durch starke Behaarung unterschieden) nachgewiesen wurde. Die Entdeckung, daß die Fortexistenz des Cynips calicis nur dann gesichert ist, wenn die zwei Eichenarten, Quercus pedunculata und Qu. cerris, in nicht zu großer Entfernung von einander in den Beständen wachsen, erklärt nun auch, warum die Wespe nur in der eigentlichen Heimat der Zerreiche, Oesterreich-Ungarn und Südosteuropa, allgemein vorkommt, in Deutschland, den Niederlanden etc. nur sporadisch auftritt (offenbar da, wo Quercus cerris angepflanzt wurde). Da die zarte Cerriwespe nur in der vollen Südsonne zur Eiablage auf den jungen Früchten von Qu. pedunculata schreitet, findet man in geschlossenen Beständen die Galle nur hoch an den Bäumen. Trifft es sich einmal, daß Anfang März (Flugzeit der Cynips calicis) ein geeigneter Wind die Tiere den Zerreichen zuführt und dagegen Anfang Mai ein entgegengesetzter Wind die Cerriwespen wieder nach dem Walde zurückweht, so entstehen die Knoppern beinahe an jeder Eichel der bevorzugten Bäume.

Bei den so komplizierten Lebensverhältnissen der Wespe muß die Heterogenesis in hohem Grade vorteilhaft sein. Es wird durch dieselbe nicht nur die Eierzahl gewissermaßen vervielfältigt (bei der Caliciswespe etwa auf das 30fache in $1^1/_2$—2 Monaten), sondern es werden auch die Chancen auf schlechte Witterung auf die Hälfte reduziert und die verschiedene Lebensweise der zwei Generationen muß die Sicherheit des Fortbestehens der Species erhöhen. Daß gerade die Zerreiche zur Eiablage ausersehen wird, erklärt sich vielleicht daraus, daß in Farbe und Behaarung die Caliciswespen mit den Zweigen und Knospen der Zerreiche so übereinstimmen, daß die eierlegende Caliciswespe darauf nur sehr schwierig zu sehen ist, während sie auf Qu. pedunculata ungeschützt wäre. Eine an Qu. cerris in den letzten Jahren in den Niederlanden häufig auftretende Galle hatte der Verf., durch ihr Auftreten an den von Cynips calicis befallenen Zerreichenzweigen verleitet, irrtümlicherweise in die Entwickelung von Cynips calicis gezogen, so daß deren zweite Generation dimorph gewesen wäre. Sie ist identisch mit Andricus circulans Mayr und wurde in einer vorläufigen Mitteilung als Cynips cerri gemmae bezeichnet.

Da in den Niederlanden keine anderen Gallen als die von

Anfang März an den noch gänzlich geschlossenen männlichen Blütenknospen der Zerreiche. Verf. führte seine Versuche zu Delft aus. Er verwendete dabei Wespen aus im Januar angesammelten Gallen, die er an Ort und Stelle geöffnet hatte, um nur die Innengallen mitzunehmen. Einige Hunderte der letzteren wurden in Glasdosen auf Fließpapier gelegt, im Keller oder im Garten unter einer Schneedecke aufbewahrt; die Calicis wespe begann Ende Februar und Anfang März auszukriechen, in der ersten Hälfte des April kamen die letzten Nachzügler. Blütenknospentragende Aeste von Quercus Cerris (Hauptform und Var. austriaca, zwischen denen die Wespen aber keinen Unterschied machten) wurden in Wasser in Steinkübel gestellt und mit Netzen von durchsichtiger Gaze überbunden, zur Aufnahme der Wespen. Die Kübel standen teils im ungeheizten Zimmer, teils im Freien. Verf. konnte die Eiablage hier deutlich beobachten und durch Hineinwerfen vorsichtig abgeschnittener Zweige in Aether die Insekten in ihrer natürlichen Stellung dabei töten, auch Photographieen stellte derselbe während der Eiablage her. Die Wespen legen in einer Knospe viele oder auch nur einzelne Eier ab. Im ersteren Falle wird der ganze männliche Blütenstand mehr oder weniger in zu einem Knäuel vereinigte Gallen umgewandelt.

Die Gallen sind sehr klein, zum größten Teil im Perigon versteckt, daher schwer aufzufinden. Der Eikörper liegt nicht in, sondern an der Oberfläche der zur Gallbildung bestimmten Anthere und der lange Eistiel durchsetzt Perigon und Blütenspindel der Quere nach.

4) Beschreibung der Cerrigalle. Die Cerrigalle, die Anfang der zweiten Hälfte des Mai zu reifen beginnt, ist nächst der Schlechtendaligalle die kleinste Cynipidengalle ($1^1/_2$—2 ⩶ 1 mm). Zu ihrer Bildung wird nur die eine Antherenhälfte benutzt, die andere bleibt als eine Einsenkung seitlich unterhalb der Spitze der Galle sichtbar. Die Cerrigallen sitzen mit breiter Basis meist zu zweien unten am Perigon auf dem Blütenboden, die übrigen Staubgefäße sind normal und stäuben auch zur Flugzeit der Cerriwespe (wo Quercus pedunculata bereits verblüht ist und Fruchtansätze zeigt). Bei der Reife besteht die Cerrigalle aus einer papierdünnen, gebrechlichen, schön braungefärbten (vorher grünen) Schale aus dickwandigem parenchymatischen Zellgewebe. Nahrungs- und Stärkegewebe haben ähnliche Struktur wie bei der Taschenbergigalle, verschwinden aber im April.

5) Die Cerriwespe (Andricus cerri) ist schwer von Andricus burgundus Giraud und Andricus circulans Mayr zu unterscheiden (die jedoch andere Gallen erzeugen), sie ist $1^1/_2$ mm lang. Zwischen Fühler- und Flügelspitze (Flügel in Ruhe) messen die im Anfange der Flugzeit häufigeren Männchen $4^1/_2$ mm, die Weibchen etwas weniger. Die Paarung erfolgt sofort nach dem Ausfliegen aus der Galle. Bei der Burgundusgalle, die gleichfalls an der männlichen Cerriinflorescenz gebildet war, ist die Anhäufung der Gallen so dicht und die Spindelverkürzung so groß, daß von freien Blüten nichts mehr zu sehen ist. Noch gewichtiger ist der Unterschied zwischen den Eiern von Andricus burgundus, A. circulans und A. cerri. Bei letzterer sitzt der Eistiel polar am Eikörper in Richtung der Längsachse (ähnlich wie beim Mutterei

Cynips calicis). Das Circulansei hat einen seitlich unter der Spitze des Eikörpers sitzenden, mit der Längsachse des letzteren einen rechten Winkel bildenden Stiel. Das Burgundusei nimmt genau eine Mittelstellung zwischen Cerriei- und Circulansei ein, der Eistiel ist nicht polar mit dem Eikörper verbunden, sondern bildet damit einen Winkel von etwa 45°. Auch die Chitinteile des Legeapparates bei A. burgundus sind Mittelbildungen zwischen denen von A. cerri und A. circulans. A. cerri besitzt ferner in beiden Geschlechtern blasser gefärbte (fast gelbe) Fühler und Beine wie A. burgundus und ist kleiner wie letzterer. Eine sehr große Uebereinstimmung zeigt dagegen A. cerri und A. nudus Adler.

6) Die Circulansgalle. Es wurde schon erwähnt, daß die früher als Cynips cerri gemmae beschriebene Wespe mit Cynips calicis nichts zu thun hat. Verf. erkannte zuerst seinen früheren Irrtum daran, daß die Circulanswespe zur Eiablage auf Quercus pedunculata nicht zu bewegen war. Nach vielen fruchtlosen Versuchen konnte festgestellt werden, daß Andricus circulans ihre Eier Anfang Mai in die jungen vegetativen Achselknospen der Zerreiche ablegt, also nicht heteroecisch ist. Die Circulansgalle tritt in zwei Formen auf, je nachdem sie an Schlafaugen oder an Treibaugen sitzt, die erstere zeigt das typische Bild nach Mayr's Beschreibung, die zweite ist der von Wachtl für Andricus cryptobius abgebildeten ähnlich. Die reife Circulansgalle ist klein, gelb oder graulich, coconähnlich, 2—3 $\asymp$ $1^1/_2$ mm, fein gekörnelt, auf der Seite des Knospeninnern mit brauner Linie von dem abgestorbenen seitlichen Teile des Blättchens. Während des Wachstums gleicht sie der Galle von Spathegaster verrucosa. Die Nahrungsaufnahme des Bewohners findet durch Diffusion statt (die Gallwand besteht aus mit Eiweiß und Oel ausgefülltem Nahrungsgewebe). In der zweiten Lebensphase erst zernagt die Larve das Nahrungsgewebe sowie Stärkeparenchym, so daß bei der Verpuppung und beim Ausfliegen der Wespe nur die leicht zerbrechliche Schale des Schutzgewebes übrig bleibt. Das Insekt flog im Mittel am 8. Mai, also 14 Tage früher aus als A. cerri.

7) Die Circulanswespe. Die Unterschiede dieser Wespe von Verwandten wurden zum Teil oben schon hervorgehoben. Die Frage nach der Heterogenesis ist noch nicht entschieden. Da die Entwickelung der Circulanswespe bereits im Frühjahre stattfindet, ist jedenfalls noch eine andere, sehr kleine parthenogenetische Generation vorhanden, die wahrscheinlich aus einer sehr kleinen, in der Knospe oder Knospenaxe verborgenen Galle im September oder Oktober ausfliegt.

8) Eiablage durch die Cerriwespe. Verf. konnte Hunderte eierlegender Cerriweibchen bei der Arbeit einfangen und in der Gefangenschaft die Art ihrer Eiablage beobachten. Im Freien fand Verf. oft 2—5 Wespen an den einzelnen Näpfchen der Stielrippe thätig. Indem er diese Eichelchen durch Seidenfäden kennzeichnete, konnte er später die Erzeugung der Knoppern durch sie konstatieren. Das Eikörper der Cerriwespe ist von gleicher Größe wie der ihrer riesigen Mutter; eine Cerriwespe hat daher nur ca. 30 Eier, Cynips calicis deren 700—800.

9) Entwickelung der Calicisgalle. Das Cerriei wird im Boden der ringförmigen Spalte zwischen Cupula und Eichel abgelegt, einzelne Gallen werden auch durch die Eichel selbst getragen und zeigen, daß das Gallenei zuweilen zu hoch angelegt wird. Die Zahl der durch das Ei infizierten Zellen, die zur Gallenbildung verwendet werden, schätzt Verf. weit über 2000. Die Entwickelungsphasen der Knoppern dürften ähnliche sein, wie sie Verf. für die Kollarigalle beschrieb, doch ist die schon sehr früh gebildete Gallencupula, die sich als seitliche Wucherung aus der Basis der jungen Galle in Form eines zweiten Ringwalles entwickelt, eine bei Kollari fehlende Neubildung. Im übrigen ist bei beiden die Anordnung der Gewebe anfangs die folgende: Oel- und eiweißführendes Nahrungsgewebe, Calciumoxalatgewebe, Stärkeparenchym, dünnwandiges oder dickwandiges Rindengewebe und Epidermis. Die dem Embryonalstadium folgenden Wachstumsvorgänge werden bei der Kollarigalle durch die Thätigkeit der „Cambialzone" vermittelt, die der Calicisgalle fehlt. Das physiologische Aequivalent der dicken Kolaririnde stellt die Caliciscupula dar. Die Steinzellenschicht der Calicisinnengalle wird unmittelbar aus der Gallenrinde (die bei Kolari erst die Cambialzone erzeugt), gebildet. Doch ist dort die dicke Rinde der Sitz des Gerbstoffes, hier die Cupula.

Die freie Oberfläche der Caliciscupula trägt vierzellige, schleimabsondernde Drüsenhaare, die dicht gedrängt stehen, so daß sie eine glänzende Oberfläche bilden. Die Schleimabsonderung findet zwischen Zellwand und Cuticula statt, die dadurch nach außen gewölbt und schließlich zersprengt wird. In physiologischer Hinsicht giebt die Entwickelungsgeschichte dieser höher differenzierten Gallen zu wichtigen, die ontogenetische Entwickelungsweise wie die Variabilitätslehre berührenden Betrachtungen Anlaß, sie wirft Licht auf die Gesetze der normalen Organbildung und der Variabilität, wie Verf. des Näheren darlegt.

Ludwig (Greiz).

Berichtigung.

Die Figur zur Arbeit Will in No. 15. p. 486 steht auf dem Kopfe und gehört auf p. 494.

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

1896. Centralblatt Bd. II. No 17.
für Bakteriologie und Parasitenkunde.
II. Abteilung.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung.

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Krakau, Prof. Dr. M. W. Beyerinck in Delft, Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen, Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Bonn, Privatdocent Dr. Wehmer in Hannover, Dr. Weigmann in Kiel, Dr. Wilfarth in Bernburg und Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

II. Band. Jena, den 30. September 1896. No. 18.

Preis für den Band (26 Nummern) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige ***Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original-Mittheilungen.

Ueber den Nachweis des Zuckers in vergorenen Würzen und den unvergärbaren Würzerest der Hefen Saaz, Frohberg und Logos.

[Mitteilungen aus der vom Kgl. Bayer. Staate subv. Versuchsstation für Bierbrauerei zu Nürnberg.]

Von

E. Prior.

Bei meinen Untersuchungen über die diastatischen Achroodextrine, welche zur Entdeckung eines dritten vergärbaren Achroodextrins

führten[1]), die nunmehr abgeschlossen sind und über welche ich demnächst eingehend berichten werde, fand ich, daß, wenn auch der beim Fraktionieren der Stärkeumwandlungsprodukte mit Alkohol-Wasser-Mischungen erhaltene unlösliche Anteil mit essigsaurem Phenylhydrazin kein krystallisiertes Osazon bildet, also anscheinend zuckerfrei ist, dennoch Zucker vorhanden sein kann, namentlich wenn in hochprozentigen, 20—30-proz., Lösungen fraktioniert wird.

Betrachtet man daher ohne weiteres den unlöslichen Anteil, welcher mit Phenylhydrazin kein krystallisierbares Osazon liefert, als zuckerfrei, so kann man leicht einen Irrtum begehen.

Um sich von der An- und Abwesenheit von Zucker zu überzeugen, hat man folgendermaßen zu verfahren. Das Dextrin oder das Gemisch von Dextrinen wird wiederholt, etwa vier Mal, mit Alkohol von 95 Gewichtsprozent in 5-proz. Lösung je eine halbe Stunde lang am Rückflußkühler gekocht; aus den vereinigten alkoholischen Auszügen wird der Alkohol durch Abdestillieren entfernt, der Rückstand in Wasser gelöst und die Lösung in üblicher Weise für die Osazonprobe verwendet. Das Reaktionsgemisch wird heiß filtriert und zunächst erkalten gelassen. Scheidet sich hierbei kein Osazon aus, so darf nur auf die Abwesenheit von Glukosazon, nicht aber auf die von Maltosazon geschlossen werden. Ebensowenig ist ein solcher Schluß gerechtfertigt, wenn beim Eingießen der klaren braunen Flüssigkeit in Wasser nicht sofort Trübung und Osazonausscheidung eintritt, denn ich habe eine Osazonausscheidung noch nach vielen Stunden beobachtet. Man läßt deshalb die Flüssigkeit 24 Stunden stehen. Bleibt dieselbe klar und hat sich nach dieser Zeit kein krystallisiertes Osazon ausgeschieden, so ist das geprüfte Material zuckerfrei.

Das Verfahren giebt deshalb genaue Resultate, weil durch Behandlung des Prüfungsobjektes mit 95-proz. Alkohol in 5-proz. Lösung weniger Dextrin und mehr Zucker in das Lösungsmittel übergeht, während in dem Ursprungsmaterial relativ viel Dextrin und nur noch so wenig Zucker enthalten sein kann, daß sich letzterer dem Nachweis entzieht.

Nachdem von seiten Arminius Bau, Munsche, Windisch, Delbrück u. A. s. Z. die Ansicht vertreten wurde, der mit Hefe Frohberg erhaltene unvergärbare Würzerest sei absolut zuckerfrei, während der von Hefe Saaz β-Isomaltose enthalte, eine Ansicht, welcher ich bekanntlich auf Grund früherer Versuche entgegentrat, erschien es mir angezeigt, mit der beschriebenen Methode die unvergorenen Würzeanteile der beiden Hefen nochmals auf Zucker zu prüfen und auch den Würzerest der noch höher vergärenden Hefe Logos, welche van Laer[2]) entdeckte, mit in das Bereich der Untersuchung zu ziehen.

Die zu den Versuchen verwendete Laboratoriums-Würze enthielt

---

1) Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde. II. Abt. Bd. II. p. 271.

2) Für die von Herrn Kollegen Prof. Dr. van Laer gütigst überlassene Hefe sage ich auch hiermit demselben besten Dank. Prior.

8,93 Proz. Extrakt und im Extrakt 63,35 Proz. reduzierende Kohlehydrate als Maltose berechnet.

Die Gärungen wurden bei 25° C im Thermostaten in mit Watte verschlossenen Erlenmeyer-Kolben ausgeführt und die Kulturen zur Vermeidung jeden Einwandes 10, 17 bezw. 20 Tage im Thermostaten belassen. Jeden Tag wurde 1—2 mal durchgeschüttelt.

Es waren von 100 Gewichtsteilen reduzierenden, als Maltose berechneten Kohlehydraten vergoren:

	Am 10. Tage	Am 17. Tage
von Hefe Saaz	76,83 Proz.	76,71 Proz.
„ „ Frohberg	87,80 „	87,65 „
„ „ Logos	92,73 „	93,23 „

Die von je 700 cc Würze nach einer Gärungsdauer von 20 Tagen im Thermostaten bei 25° C unter den mitgeteilten Bedingungen erhaltenen Flüssigkeiten wurden eingedampft und das Extrakt alsdann viermal nach einander in 5-proz. Lösung mit 95-proz. Alkohol ausgekocht und die alkoholischen Flüssigkeiten, wie oben beschrieben, für die Osazonprobe verwendet.

Das unvergorene Würzeextrakt der Hefe Saaz. Beim Erkalten der Reaktionsflüssigkeit schieden sich reichliche Mengen Osazon aus. Dasselbe wurde nach dem Absaugen mit heißem Wasser behandelt, wobei ein Anteil ungelöst zurückblieb, welcher jedoch in Alkohol löslich war und in der bekannten Form des Glukosazons krystallisierte. Der Schmelzpunkt lag bei 208° C.

Das in Wasser lösliche Osazon erwies sich bei der Untersuchung als reines Maltosazon vom Schmelzpunkt 192° C.

Die Mutterlauge des Osazons wurde in Wasser gegossen; nach einigen Minuten trat Trübung ein und nach 14 Stunden hatten sich reichliche Mengen unreines Maltosazon vom Schmelzpunkt 150—151° mit den Eigenschaften des früher als Isomaltosazon bezeichneten Körpers ausgeschieden.

Das unvergorene Würzeextrakt der Hefe Frohberg wurde ebenso behandelt. Nachgewiesen wurden Maltosazon und unreines Maltosazon (Schmelzpunkt 152°).

Das unvergorene Würzeextrakt der Hefe Logos. Aus diesem konnte nur unreines Maltosazon erhalten werden.

Diese Untersuchung bestätigt, daß bei gleichzeitiger Anwesenheit von Dextrinen, wie das in Bierwürzen der Fall ist, die Maltose selbst von den hoch vergärenden Hefen Frohberg und Logos nicht vollständig vergoren wird, und daß Hefe Saaz bei höherer Temperatur Glukose, die durch Hydrolyse aus Maltose entstanden war, unvergoren läßt.

Zucker, bezw. Kohlehydrate werden eben nur dann von der Hefe vollständig vergoren, wenn die Bedingungen, die für die verschiedenen Kohlehydrate verschieden sind, entsprechend gewählt werden. Während z. B. Maltose für sich allein von den drei Hefen leicht und vollständig, wenn auch, dem Durchlässigkeitsvermögen entsprechend, mit verschiedener Geschwindigkeit bei 25° C vergoren

wird, vergärt Achroodextrin III und ebenso auch Maltose in Mischung mit Dextrinen nur teilweise.

Das Resultat dieser Versuche bildet eine Bestätigung für die von mir vertretene Anschauung über die Gärungserscheinungen, nach welcher sich das Verhalten der Kohlehydrate gegenüber verschiedenen Hefen ohne Berücksichtigung der bei der Assimilation in Betracht kommenden Gesetzmäßigkeiten, unter welchen die Dichte der Zellmembran und die Gesetze des osmotischen Druckes die erste Stelle einnehmen, nicht erklären läßt.

Die Untersuchung spricht auch für die Richtigkeit meiner schon vor Jahren ausgesprochenen Ansicht[1]), daß die von Delbrück, Bau, Munsche, Windisch u. A. zur Auffindung und Charakterisierung von Würze-Kohlehydraten (β-Isomaltose Bau's) angewandte physiologische Würzeuntersuchung absolut unbrauchbar ist, weil nachgewiesenermaßen trotz des verschiedenen Endvergärungsgrades der einzelnen Hefen, doch dieselben Kohlehydrate in dem unvergärbaren Würzeanteil, wenn auch in verschiedenen Mengen, enthalten sind, und weil durch Hydrolyse neue Zucker, z. B. Glukose, gebildet werden, die z. B. Hefe Saaz teilweise unvergoren läßt.

Demnächst, gelegentlich der näheren Charakterisierung des Achroodextrin III, werde ich die Ursache der Verschiedenheiten im Endvergärungsgrad der drei geprüften Hefen näher darlegen.

On Bacillus mesentericus niger (a new Potatoe Bacillus).

By

Joseph Lunt, B.Sc. F.C.S.

Chemist to the Water Laboratory, British Institute of Preventive Medicine.

In a recent paper (Centralbl. für Bakteriol. und Parasitenkunde. 2. Abtlg. Bd. II. 1896.) Herr Wilhelm Biel describes a new black pigment-forming potatoe bacillus.

Just previous to the publication of this description I isolated from water, an organism which seems to be identical with Herr Biel's and a few notes giving some further information respecting it may be of interest.

In examining the Bacterial deposit on the outside of a Berkefeld filter for the presence of the typhoid organism in water, by means of broth tubes containing 2 $^0/_0$ of Parietti's solution, a film and spore-forming bacillus appeared as is frequently the case.

On making gelatine plate cultures, liquefying colonies appeared which could not be distinguished from those of Bac. subtilis or Bac. mesentericus vulgatus.

From these colonies cultures were made on potatoe, and it was

1) Diese Zeitschr. Bd. I. 1895. p. 432, 442, 630 u. f.

the characteristic growth on this medium which led to its detection as a new organism, the potatoe after some days having turned black. Subsequent subcultures on potatoe gave identical results viz. the production of a black pigment.

The name Bac. mesentericus niger was given to the new organism before I had seen Herr Biel's description, and as he gives no name to it the above seems a suitable one to adopt.

The organism which I have isolated agrees with Herr Biel's in showing copious spore formation, in rapidly liquefying gelatine, and in giving grey turbid liquefying colonies which exhibit "swarming movements". — The organism also produces a funnel shaped liquefaction of Gelatine and curdles milk with subsequent solution of the curd.

As regards the resistance of the spores to heat, mature spores from a two months old potatoe culture were sown in broth tubes. These tubes were heated to 85° C for ten minutes, but the spores were not destroyed. A temperature of 90° C for ten minutes however destroyed the spores sown in broth.

Gelatine plate cultures of the bacilli show mainly very short motile threads of 2—4 cells, but when growing from spores on the surface of broth, extremely long threads are formed. The long threads were non motile but the short rods and pairs of rods had a very active motility. Old broth cultures became dark brown in colour, differing in this respect from Bac. mesentericus vulgatus.

The cultures on agar and gelatine cannot be easily distinguished from the latter organism, though on agar a faint brownish black tint sometimes appears.

After three days incubation at 37° C, copious spore formation takes place on both, potatoe and sugar-litmus-agar, whilst in milk mainly non-sporing actively motile rods are to be seen. The mature spores develop in broth containing 2 % of Parietti's solution, but this amount seems to be the maximum.

The broth cultures (7 days growth) when filtered through a Berkefeld filter liquefied gelatine and produced glucose from starch, indicating the presence of enzymes in the cultures. When grown on potatoe mash at 37° C, there was a marked production of glucose, which strongly reduced Fehling's solution. This hydrolysis of the potatoe starch was proved to be due to the action of an enzyme. The dissolved starch contained in the potatoe mash soon disappears and no blue colouration is obtained with jodine, although in an uninoculated control flask the addition of jodine gives a pronounced blue colouration.

London, August 1896.

Ricerche biologiche sui Saccaromiceti ed Oidi. (Riassunto)[1].

[Istituto d'Igiene della R. Università di Roma.]

Del

dottore **Claudio Fermi**, Libero docente,

colla collaborazione di **E. Pomponi** (Laureando).

Mentre Pasteur prima e poi Hansen, Kaiser scopersero e studiarono diverse forme di blastomiceti soltanto dal punto di vista delle loro proprietà biochimiche senza neppure sospettare in essi proprietà patogene, ora specialmente allo studio di queste è rivolta l'opera degli sperimentatori, quali Busse, Sanfelice, Maffucci e Sirleo, Tokeshige, Fermi ed Aruch, Marcone, Roncali, Kahane etc. che sperarono e per alcune malattie trovarono in essi la causa di morbi la di cui etiologia era finora ignota.

Stante quindi la grande importanza che ha ora questa classe di microrganismi anche dal lato della medicina pratica, ho creduto utile d'intraprendere uno studio sulle proprietà biologiche dei saccaromiceti e degli oidi, allo scopo principale di trovare dei metodi sicuri e facili per isolare, differenziare le varie specie, conservarle su adatti substrati, esaltarne o attenuarne la virulenza, impedirne infine lo sviluppo e distruggerli.

Prospetto del lavoro.

1) Comportamento verso gli agenti fisici
   - α) Calore,
   - β) Luce,
   - γ) Disseccamento,
   - δ) Filtrazione.

2) Comportamento verso gli agenti chimici:
   - α) Resistenza agli acidi,
   - β) „ „ alcali,
   - γ) „ „ succo gastrico.

3) Sviluppo in presenza di acidi.

4) Sviluppo in presenza di alcali.

5) Comportamento verso gli alcaloidi { nicotina, chinina, stricnina, morfina.

6) Comportamento nella glicerina pura — glicerina ed acqua — glicerina e succhi e tessuti animali — glicerina zucchero e peptone.

7) Resistenza all' inanizione.

---

1) Il lavoro completo uscirà quanto prima nel Policlinico.

8) Sviluppo in presenza di diversi gas { idrogeno solforato, anidride carbonica, gas illuminante, idrogeno, azoto.

9) Enzima proteolitico,
„ coagulante,
„ diastatico,
„ inversivo.

10) Azione sull' amigdalina.

Comportamento verso gli agenti fisici.

Azione della temperatura.

1) Tanto i Saccaromiceti che gli Oidi sui quali si è sperimentato, resistono tutti quanti alla temperatura umida di 60° C per un' ora.

2) A 65° C, per un' ora resistono tutti gli Oidi, eccetti il B, e muoiono tutti i Saccaromiceti.

3) A 70° C per $^1/_2$ ora vengono uccisi tutti indistintamente. Concluderemo quindi: α) che i Saccaromiceti ed Oidi si comportano al calore umido presso a poco come la maggioranza degli Schizomiceti asporigeni; β) che gli Oidi sono più resistenti dei Saccaromiceti.

Azione della luce.

I Saccaromiceti verso l'azione della luce come verso quella del calore sono più sensibili degli Oidi.

Disseccamento.

Tanto i Saccaromiceti che gli Oidi resistono molto all' azione del disseccamento essendo ancora vivi dopo due mesi. Anche in questo caso i Saccaromiceti sono più sensibili degli Oidi: i Saccaromiceti dopo un mese accennano ad un ritardo di sviluppo (sviluppano solo tra il 2° e il 3° giorno.

Comportamento verso i filtri di carta.

Pure essendo i Saccaromiceti ed Oidi più grandi degli Schizomiceti, il passaggio di essi attraverso i filtri si compie con molto facilità. Essi passano attraverso cinque filtri: vengono trattenuti completamente solo da 6—8 filtri. Tale passaggio riescie più facile per i Saccaromiceti che per gli Oidi, e nessuna differenza si nota fra Saccaromiceta e Saccaromiceta, fra Oidio ed Oidio.

Questi filtri per la comodità loro, per l'esiguo costo, per la facilità colla quele si possono accrescere gradatamente nel loro potere, aumentandoli a fogli a fogli, prestano spesso ottimi servizi nell' isolamento dei prodotti microbici.

Comportamento verso gli agenti chimici.

Acido cloridrico. In acido cloridrico al 2 °/₀ dopo 24 ore, degli Oidi viveva ancora il II, III, IV, V; dei Saccaromiceti l' F ed il

Saccharomyces Rivoltae. Gli altri erano tutti morti. Con aggiunta di glucosio oltre i detti vivevano ancora degli Oidi, il B ed il B; dei Saccaromiceti l'Ellipsoideus e l'I. Dopo 5 giorni nell' acido cloridrico al 2 %, erano morti tutti mentre nell' acido cloridrico e pepsina vivevano ancora degli Oidi il B, D, II, III, V e dei Saccaromiceti l'I. Dopo 10 giorni mentre non se ne sviluppava più nessuno dall' acido cloridrico e pepsina, nell' acido cloridrico e zucchero viveva ancora il B, e nell' acido cloridrico, pepsina e zucchero vivevano il B, III e IV (Oidi).

Potassa. Nella potassa al 5 % dopo 24 ore erano morti dei Saccaromiceti l'F, Sacch. ellipsoideus, Sacch. Rivoltae; degli Oidi il II, III; nella potassa e zucchero erano morti i soli Saccaromiceti F, Saccharomyces Rivoltae. Dopo 5 giorni erano tutti morti tanto nella potassa sola quanto nella potassa e zucchero. Da ciò si conclude: α) come gli Oidi tanto nell' acido cloridrico come nella potassa sono più resistenti dei Saccaromiceti; β) che degli Oidi i più resistenti sono il B, D, III, IV, dei Saccaromiceti l'I; γ) che la resistenza sia degli uni che degli altri è maggiore nell' acido cloridrico e zucchero ed ancor più in acido cloridrico, pepsina e zucchero che in acido cloridrico solo; δ) che la pepsina a conferma di quanto aveva già dimostrato Fermi (C. Fermi, Die Wirkung der proteolytischen Enzyme auf die lebendige Zelle als Grund einer Theorie über die Selbstverdauung. Centralblatt für Physiologie. 1895. No. 21) cioè che gli enzimi proteolitici sono inattivi sul protoplasma vivo (microrganismi, cellule etc.) non esercita azione nociva sui Blastomiceti ed Oidi.

Sviluppo sui substrati acidi ed alcalini.

Acido cloridrico. Alla presenza di acidi ed alcali gli Oidi resistono più dei Saccaromiceti, infatti in agar con acido cloridrico sono più resistenti degli Oidi il B e l'Oidium albicans che cessano di svilupparsi solo con 15 goccie d'acido cloridrico al 10 % in 5 cm^3 di agar neutro. Il D, III, IV non si sviluppano più con 13 goccie, gli altri con 10. Dei Saccaromiceti il più resistente è l'Ellipsoideus che solo con 14 goccie viene arrestato nel suo sviluppo: il meno resistente è il Saccharomyces Rivoltae che cessa di svilupparsi con 9 goccie. Una differenza massima rilevasi a questo riguardo che cioè mentre lo sviluppo per gli Schizomiceti in agar con acido cloridrico alla soluzione del 2 % cessa da 9—10 goccie, per Blastomiceti ed Oidi cessa solo da 35—60.

Potassa caustica. Nella potassa normale degli Oidi i più resistenti sono il D, II, IV., Oidium albicans che non si sviluppano più con 19, 23, 17 goccie, il meno resistente è il B che cessa di svilupparsi con 12 goccie. Dei Saccaromiceti i più resistenti sono l'F, Saccharomyces Rivoltae, fermento rosso che non si sviluppano più con 15—14 goccie: il meno resistente è l'ellipsoideus che cessa di svilupparsi con 12 goccie.

Alcaloidi.

Nicotina. In agar contenente il $^{1}/_{2}$ % di nicotina (5 goccie di soluz. al 10 % su 5 cm^3 di agar) non si sviluppa nessun micrорganismo.

Chinina. Verso la chinina al 5 % sono molto sensibili: i più resistenti sono degli Oidi il D, III, IV, Oidium albicans: dei Saccaromiceti l'A.

Stricnina. Verso la stricnina sono assai resistenti: i meno resistenti sono dei Saccaromiceti l'I ed il fermento rosso che non si sviluppano più con 24—29 goccie (24—29 goccie di soluz. di stricnina al 1 % in 5 cm^3 di agar), degli Oidi il B. I più resistenti sono dei Saccaromiceti l'ellipsoideus e degli Oidi il D, II, III, IV, Oidium albicans che con 40 goccie di detta soluzione vivono ancora.

Morfina. Verso la morfina (2 cm^3 di soluzione al 2,66 % in 5 cm^3 di agar) sono assai resistenti: infatti tutti si sviluppano senza poter rilevare alcuna differenza fra Saccaromiceta e Saccaromiceta, fra Oidio ed Oidio.

Verso la nicotina e chinina sono più resistenti alcuni Schizomiceti che i Blastomiceti: verso la morfina e stricnina non si trova più alcuna differenza.

Azione della glicerina.

Il fatto che in glicerina virus (vaccinio, rabbico etc.) resistono a lungo ci indusse a studiare l'azione di questa sostanza sui Blastomiceti a cui appartiene forse il virus di diverse infezioni.

I Saccaromiceti ed Oidi muoiono tutti in 24 ore nella glicerina pura. In glicerina ed acqua (1 su 3) dopo 10 giorni, di quelli sperimentati vive solo l'Oidium albicans; gli altri quattro sono morti dopo 24 ore. In glicerina più emulsione di cervello dopo 10 giorni vivono l'A. Saccharomyces Rivoltae, Oidium albicans; il Blastomyces lyssae muore dopo 48 ore, il D dopo 24 ore. In glicerina e cervello dopo 3 giorni vivono l'Oidium albicans e il Saccharomyces Rivoltae, degli altri 3 il D ed il Blastomyces lyssae Ferranii[1]) muoiono subito, l'A dopo 48 ore. In glicerina. zucchero e peptone dopo 5 giorni vivono ancora tanto i Saccaromiceti che gli Oidi, mentre muoiono tutti dopo 10 giorni. Concluderemo che i Saccaromiceti e gli Oidi nella glicerina diluita con acqua e nella glicerina unita a sostanze nutritizie resistono di più che nella glicerina pura. I virus conservati in glicerina si trovano appunto in queste condizioni. Degli Oidi il più resistente è l'Oidium albicans e dei Saccaromiceti l'A ed il Saccharomyces Rivoltae: dei due patogeni Oidium albicans, Blastomyces lyssae è molto più resistente l'Oidium albicans.

---

1) Isolato da Fermi ed Olper.

Acqua distillata.

Tutti gli Oidi vivono ancora in acqua distillata dopo 63 giorni, meno il B che muore dopo 23 giorni: dei Saccaromiceti il più resistente è il Saccharomyces Rivoltae che vive ancora dopo 27 giorni: degli altri l'I nucore dopo 23 giorni; l'F dopo 20, l'A dopo 18, l'ellipsoideus dopo 8. Da ciò risulta come gli Oidi nell' acqua distillata vivono più lungamente dei Saccaromiceti.

Comportamento verso i gas.

Idrogeno solforato. Nell' idrogeno solforato si arresta non solo lo sviluppo degli Schizomiceti ed Ifomiceti (Fermi) ma anche quello dei Blastomiceti.

Anidride carbonica. Nella CO^2 tanto i Saccaromiceti che gli Oidi si sviluppano rigogliosamente.

Gas illuminante. In questo gas i Saccaromiceti si sviluppano con ritardo di 3 giorni, mentre per gli Oidi non si notò differenza alcuna.

Idrogeno. Nell' idrogeno si svilupparono tutti senza eccezione

Azoto. I tubi (culture ad infettione in agar) venivano capovolti in una soluzione di pirogallato potassico. Dopo tre giorni si osservvò sviluppo solamente per l'Oidio II e III e per il mughetto. L'Oidio II presentò lo sviluppo più rigoglioso.

Enzimi.

Enzima coagulante. Non hanno azione coagulante sul latte nè i Blastomiceti, nè gli Oidi. Alcuni l'acidificano leggermente.

Diastasi. Nessuno dei Saccaromiceti ed Oidi studiati trasformò l'amido in zucchero. Fermi aveva già dimostrato come il fermento rosso, il bianco, l'Oidium lactis ed albicans mancassero di tale potere.

Invertina. Il potere inversivo invece è più diffuso nei Saccaromiceti ed Oidi che ne gli Schizomiceti, l'opposto di quello che accade rispetto al potere diastasico. Per tutti i Saccaromiceti ed Oidi studiati si dimostrò energico potere inversivo. Hansen ammise il potere inversivo nei Blastomiceti negandolo solo al Sacch. membranaefaciens ed a qualche altro. Fermi e Montesano lo dimostrarono pel fermento rosso, bianco, nero ed Oidium albicans.

Decomposizione dell' amigdalina. L'azione dei micrcorganismi sull' amigdalina fu studiata per la prima volta da Fermi (Arch. d'Hygiene. 1890) ed in seguito da Fermi e Montesano (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. XX. No. 19—20) estendendo lo studio a 70 specie di microrganismi e dimostrando essere il fermento rosso, bianco, nero e l'Oidium albicans inattivi sull' amigdalina. Nessuno dei Saccaromiceti ed Oidi da me studiati decompose l'amigdalina con produzione d'aldeide benzoica.

Roma, 20 Luglio 1896.

Bakteriologische Untersuchung der Mineralquellen der Schweiz.

I. Schwefelthermen.

Die Thermalquellen Badens.

Von

Dr. J. Wittlin.

In dem soeben erschienenen Werke „Das Wasser und die Mikroorganismen" von Loeffler, Jena (Verlag von Gustav Fischer) 1896, macht Verf. darauf aufmerksam, daß über das Verhalten der Bakterien in den natürlichen Mineralwässern verhältnismäßig wenig bekannt ist, und in der Litteratur über Schwefelthermen sind nur die Arbeiten der von Certes und Carrigon untersuchten Sprudel von Luchon und die von Justyn Karliński in Ilidze in Bosnien angeführt.

Da es nun Wunsch von Herrn Prof. Dr. Tavel, Direktor des hiesigen bakteriologischen Universitätslaboratoriums, ist, die Mineralquellen der Schweiz auf ihren Gehalt an Bakterien zu prüfen, welche Arbeit derselbe mir anzuvertrauen die Güte hatte, entschloß ich mich, demselben nachzukommen und mit den Schwefelthermen Badens den Anfang zu machen.

Wegen Platzmangels im Institute mußte ich einen Teil der Arbeit im Laboratorium der Molkereischule „Rütti" machen, welches der Leiter desselben, Herr Dr. v. Freudenreich, mir zur Verfügung zu stellen die Freundlichkeit hatte. — Da die beiden oben genannten Herren ein sehr reges Interesse für die Arbeit zeigten, indem Herr Prof. Tavel mir seinen Rat und Hilfe angedeihen ließ, Herr Dr. v. Freudenreich mit mir gemeinschaftlich die Platten durchschaute, gestatte ich mir, an dieser Stelle ihnen meinen verbindlichsten Dank zu sagen.

Die Mineralquellen Badens wurden vom Geologen Prof. Heim eingehend beschrieben und finden wir in der eben erschienenen Beschreibung der Thermen in Baden (im Selbstverlage der Quellendirektion) auf p. 3 die Worte Prof. Heim's wiedergegeben, weshalb ich es für überflüssig erachte, auf die nähere Beschreibung derselben einzugehen.

Hinzuzufügen wäre noch, daß die Quellen von Hotels überbaut sind, oder in unmittelbarer Nähe der lezteren sich befinden.

Das Wasser wird entweder aus Sammelreservoirs oder von den Quellen durch Röhren direkt in die Badekabinen geführt; gleichzeitig findet man Röhren an der Wand angebracht, welchen mittels Hähnen das Thermalwasser zum Trinken entnommen wird.

Am 9. Juli l. J. begab ich mich nach Baden, wo ich die Quellen in Augenschein nahm; nachdem ich mich überzeugt hatte, daß dieselben mehr oder weniger gleich hoch liegen, die größten Abweichungen kaum 5 m betragen, schien es mir angezeigt, gerade von denjenigen

Quellen Proben zu entnehmen, von welchen auch diejenigen zur chemischen Analyse entnommen worden waren.

Ich entnahm deshalb im Hotel Ochsen Proben von der Straßenquelle und Paradiesquelle, und im Verenahofe von der Verenaquelle. Außerdem entnahm ich Proben aus dem Wasser einer Badekabine im Verenahofe.

Die Temperatur betrug, als ich sie während der Entnahme der Proben um $11^1/_2$ Uhr im Hotel Ochsen maß, 46,8° C, um $3^1/_4$ Uhr im Verenahofe 46,9° C.

Die Probeentnahme geschah auf folgende Weise: Die mitgebrachten sterilen Agar- und Gelatine-Petruschky-Platten wurden mit einer Spirituslampe so lange gelinde erwärmt, bis die Gelatine resp. der Agar geschmolzen war, wonach ich die Platten so lange erkalten ließ, daß nunmehr die Impfung des noch flüssigen Nährmediums geschehen konnte.

Nun wurde die Quelle aufgedeckt und derselben mit einem Platinlöffel von 0,5 ccm Inhalt, den ich jedesmal frisch ausglühte, ein Löffel entnommen, in eine Gelatineplatte gegossen und die Platte mit Ia bezeichnet; die Platte wurde hernach einen Augenblick vorsichtig, damit keine Luftblasen entstünden, geschüttelt und schräg auf Eis gelegt, damit sie vollkommen erstarrte. In die zweite Gelatineplatte wurden zwei Löffel, somit ein ganzer Kubikcentimeter Wasser gegeben und dieselbe mit Ib bezeichnet; die dritte Platte, in welche 4 Löffel, somit 2 ccm Wasser gegeben wurden, erhielt die Bezeichnung Ic.

Nachdem die beiden letzten dieselbe Behandlung wie die erste Platte erhalten hatten, wurden sie, wie auch eine Agarplatte, welche ebenfalls mit 4 Löffeln = 2 ccm Wasser geimpft wurde und vollkommen erstarrte, bis zur Ankunft im Laboratorium in einem Eiskasten aufbewahrt.

Auf dieselbe Weise wurden auch die Proben der Paradiesquelle, beide am Vormittage, und der Verenaquelle am Nachmittage $3^1/_4$ Uhr entnommen, wobei immer je 4 Gelatineplatten mit 0,5, 1 und 2 ccm Wasser beschickt wurden. Außerdem wurden zu weiteren Versuchen im Laboratorium (Parietti'sche Methode u. s. w.) 3 sterile kalibrierte Kölbchen à 100 ccm, deren Wattepfropfen mit großen Wattebäuschen gegen Verunreinigung geschützt waren, mit dem Wasser der 3 verschiedenen Quellen gefüllt. Ueberdies nahm ich noch 100 ccm von der Verenaquelle in ein viertes steriles Kölbchen.

Im Verenahofe entnahm ich, wie in der Einleitung bereits bemerkt, auch Proben von einer Badekabine, indem ich meiner geschmolzenen Gelatine-Petruschky-Platte vier Löffel = 2 ccm vom Wasser gab und wieder erkalten ließ. Mit dem Wasser der gleichen Badekabine stellte ich noch eine Agaroberflächenplatte nach der Methode von Dr. von Freudenreich (vergl. Centralblatt f. Bakt. Bd. XV. p. 643) her, indem ich hart am Spiegel des Wassers den Wattepfropfen auf einen Augenblick von der Platte entfernte, dieselbe mit der Hand möglichst tief in das Wasser tauchte und füllte, hernach mit der Oeffnung nach unten aus dem Wasser zog, um das Wasser vollständig zu entleeren, worauf der Wattepfropfen wieder

aufgesetzt wurde. Nachdem ich alle gewünschten Proben entnommen hatte, wurden dieselben sorgfältig in Watte gepackt, in den Eiskasten gesteckt, in denselben Eis und Kochsalz gegeben und am gleichen Tage nach Bern gebracht, wo dieselben vollkommen unversehrt anlangten.

Die Temperatur im Eiskasten betrug + 4° C.

Die Gelatineplatten wurden sofort bei 22° C aufbewahrt, die Agarplatten in den auf 35° C regulierten Brütschrank gegeben. Von jedem Kölbchen wurden je 2 und 10 ccm Wasser entnommen und in Kölbchen mit ca. 50 ccm Bouillon, die bereits 24 Stunden im Thermostaten bei 46° C gestanden hatten, gegeben, und weiter bei 46° C bebrütet, um zu sehen, ob die betr. Wasserproben etwa Bakterienkulturen enthielten, die sich nur bei der normalen Temperatur des Badener Thermalwassers, nämlich ca. 46° C, entwickeln.

Zu jedem der Kölbchen, die nunmehr ca. 90 ccm des Wassers enthielten, wurden zum Nachweise etwa vorhandener Colibacillen, Streptokokken u. s. w. nach Pariett'scher Methode 10 ccm einer sterilen 20-proz. Peptonlösung und je 30 Tropfen Pariett'scher Säure beigefügt und in den Brütschrank bei 36° C gestellt. Die Gelatineplatten aller 3 Quellen blieben vollkommen steril, bis auf eine Platte, die eine zufällige Verunreinigung zeigte. Von den Platten, die aus der Badekabine entnommen waren, wird später berichtet werden.

Die Bouillonkulturen bei 46° C blieben, sowohl die mit 2 ccm, wie auch die mit 10 ccm Wasser beschickten, alle 9 Tage lang, nach welcher Zeit der Versuch abgebrochen wurde, völlig klar, besondere thermophile Bakterien sind somit im Badener Wasser nicht vorhanden. Die nach Parietti'scher Methode mit Säure versetzten Kölbchen zeigten teils am dritten, teils am fünften Tage leichte Trübung; sofort nach eingetretener Trübung wurden von denselben Platten auf folgende Weise gegossen: 1 Tropfen der trüben Nährflüssigkeit wurde mittels Pipette in 5 ccm steriles Wasser gegeben, davon wurde 1 Tropfen zu einer Gelatineplatte, der andere Tropfen zu einer zweiten Aufschwemmung in 5 ccm sterilen Wassers entnommen. Von dieser zweiten Aufschwemmung wurden nun wieder 2 Tropfen entnommen und das Verfahren wiederholt; auf diese Weise habe ich im ganzen 3 Platten von jedem Kölbchen gegossen und in den Brütschrank bei 22° C gestellt. Nach 2 Tagen waren die Platten mit verflüssigenden Kolonieen besät, die sich als mit Bacillus fluorescens liquefaciens identisch erwiesen. Außer dieser einen Art waren auf keiner der Platten andere Bakterienkolonieen zu sehen. Was das Kabinewasser anlangt, so waren auf der Gelatineplatte nach 4 Tagen 110, nach 7 Tagen 160 Kolonieen zu zählen, welchen meistens ohne Lupe anzusehen war, daß sie ganz gewöhnliche Bakterien, worunter einige verflüssigende, waren; die überwiegende Anzahl der Kolonieen war gelb, eine Anzahl war rötlich, der Rest weiß oder grau.

1) Die gelben Kolonieen waren meistenteils Kokken, obwohl auch Bacillen unter ihnen zu sehen waren.

2) Die verflüssigenden Kolonieen waren Bacillen.

3) Weiß-graues Häutchen — waren Bacillen.

4) Weiße, ganz kleine Pünktchen waren Kokken.

Auf der Agaroberflächenplatte des gleichen Kabinewassers waren, wie es scheint, dieselben, oder doch wenigstens einzelne von den soeben beschriebenen vorhanden, konnten aber, da der Bacillus fluorescens liquefaciens diese überzogen hatte, nicht isoliert werden.

Nun folgen die Agarplatten.

Die Platte I, mit 2 ccm von der Straßenquelle, blieb steril.

Platte II, ebenfalls mit 2 ccm Paradiesquelle, ist ebenfalls steril geblieben.

Verenaquelle, 3 Platten, und zwar IIIa, IIIb, IIIc. Die erste mit 2 ccm, die zweite mit 1 ccm, die dritte mit 0,5 ccm.

Von diesen blieb die zweite und dritte vollkommen steril, während die erste merkwürdigerweise ein Wachstum von 2 verschiedenen Kolonieen zeigte. So sah man auf derselben graue Kolonieen, die Bacillen, und gelbe, die Kokken waren. Angesichts der negativen Resultate der Platten IIIb und IIIc, welche, wie bereits gesagt, derselben Quelle entnommen waren, wie auch deshalb, weil auf den Gelatineplatten nichts gewachsen war, glaube ich, das Resultat dieser dritten Platte auf eine Infektion durch Kondenswasser zurückführen zu müssen. Es wurde nämlich vergessen, diese Platte mit dem Agar nach oben zu legen, weshalb das Kondenswasser sich auf der Agarschicht ansammelte und leicht eine Infektion verursachen konnte.

Ueberdies spricht noch für diese Ansicht folgender Umstand.

Um mich zu überzeugen, ob das Wachstum einer zufälligen Verunreinigung zuzuschreiben sei, oder ob die Platte mit Wasser, welche de facto diese 2 Arten enthielt, geimpft wurde, habe ich die von dieser Platte isolierten zwei Kulturen (Kokken und Bacillen) in Peptonbouillon geimpft und dieselbe auf 48 Stunden in den Thermostaten bei der Normaltemperatur des Badener Thermalwassers gestellt.

Als ich die Bouillon untersuchte, fand ich die Kokken, wenn auch nicht sehr stark, doch deutlich entwickelt, während die Bacillen gar nicht gewachsen waren.

Es ist nun klar, daß, wenn diese bei 46° C wachsenden Kokken im Verenawasser wirklich enthalten gewesen wären, die mit 2 und 10 ccm dieses Wassers geimpften und bei 46° gehaltenen Bouillonkolben sich getrübt hätten, was, wie oben gesagt, nicht der Fall gewesen ist.

Auf Grund dieser Versuche kann das Thermalwasser in Baden als beinahe keimfreies Wasser angesehen werden. Der Bacillus fluorescens liquefaciens, der im Trinkwasser sehr häufig angetroffen wird, wurde nur in den Kölbchen, welche 90 ccm Wasser enthielten, gefunden; in den Gelatine- und Agarplatten, die 2 ccm des Wassers enthielten, war er nicht vorhanden.

Nach Ansicht der meisten Forscher kann ein Wasser, welches 300 Keime pro ccm enthält, als ein ordentliches Trinkwasser angesehen werden, nach anderen Autoren, namentlich der französischen Schule, dürfen sogar bis 500 und darüber pro 1 ccm sein. Die von

Miquel aufgestellte Skala über den Bakteriengehalt des Wassers pro ccm lautet:

0—	10	eau	extiêmement pure
10—	100	„	tres pure
100—	1000	„	pure
1000—	10000	„	médiocre
über	10000	„	impure.

In dem soeben untersuchten Badener Thermalwasser befinden sich gar keine oder nur einzelne Keime pro ccm, somit ist an dessen Reinheit auch als Trinkwasser vom bakteriologischen Standpunkte gar nicht zu zweifeln.

Aus den Untersuchungen Cohn's-Winogradski's und vieler anderer Autoren ergiebt sich, daß in jedem Schwefelwasser sog. Schwefelbakterien (Beggiatoea) vorhanden sind. Nach Meyer Ahrens ist dies auch für Baden der Fall.

Meine Versuche habe ich nicht auf diesen Punkt erstreckt, da ich mich auf die rein bakteriologische Analyse derselben beschränken wollte, und die Beggiatoea überhaupt mit unseren bakteriologischen Methoden nicht zu züchten sind.

Bern, den 20. August.

Referate.

Migula, Ueber sogenannte Kapselbildung bei Bakterien. (Dtsche tierärztl. Wochenschr. 1896. No. 4 u. 5.)

M. verbreitet sich des längeren über die differential-diagnostische Bedeutung der Kapselbildung bei den Bakterien. Er hat wesentlich den Milzbrandbacillus im Auge, da man neuerdings anfängt, den Nachweis der Kapsel als ein sicheres Kriterium gegenüber einer Verwechselung mit Kadaver- und Fäulnisbacillen zu betrachten. Nach M.'s Darlegungen ist unser Wissen über die Kapselbildung noch sehr problematischer Natur, und da der Nährboden eine so große Rolle spielt, auch manche Bakterien, die sonst keine Kapsel zeigen, bei der Geißelfärbung plötzlich bei diesem oder jenem Individuum oder auch nur auf diesem oder jenem Deckglase eine Hülle erkennen lassen, so ist Vorsicht bei der Aufstellung dieses differential-diagnostischen Merkmales sehr von nöten, zumal M. angiebt, daß in faulenden Flüssigkeiten der verschiedensten Art nicht selten den Milzbrandbacillen ähnliche Stäbchen mit Kapseln vorkommen.

Deupser (Deutsch-Lissa).

Thiele, R., Die Temperaturgrenzen der Schimmelpilze in verschiedenen Nährlösungen. 8°. 37 p. mit 6 Tab. [Inaug.-Diss.] Leipzig 1896.

Da besondere Arbeiten in dieser Hinsicht noch nicht ausgeführt sind, prüft Verf. die Frage, ob und inwieweit die Kardinalpunkte der Temperatur (und zwar insbesondere das Maximum) verschiebbar sind. Studienobjekte sind Aspergillus niger und Penicillium glaucum; für diese wird speziell zu ermitteln versucht, ob eine Verschiebung des Maximums durch Wahl der besonderen Nährstoffe, ihre Konzentration oder endlich durch die Reaktion der Nährlösung erzielt wird. Die Beobachtungen erstrecken sich dabei auf Konstatierung der Thatsache des Keimens sowie die Schnelligkeit der Entwickelung, ohne daß also quantitative Bestimmungen beabsichtigt waren. Die Ermittelungen sind am Schluss tabellarisch zusammengestellt; ihre Einzelheiten wie alles über die Art der Versuchsausführung Gesagte ist im Original nachzusehen, so daß hier nur das Wesentliche der Resultate kurz berührt werden mag. Die Arbeit selbst wurde im Leipziger Botanischen Institute auf Pfeffer's Anregung durchgeführt.

Das Temperatur-Maximum erwies sich bei den genannten Pilzen mehrfach als nicht konstant. Zunächst vermag es durch die Natur des organische Nährstoffes beeinflußt zu werden, sodaß also gegebenenfalls dieser darüber entscheiden kann, ob bei einer bestimmten Temperatur noch eine Pilzentwickelung stattfindet. So kam beispielsweise Penicillium glaucum bei 35—36° C noch zur Entwickelung auf Glycerin und ameisensaurem Natron, nicht dagegen auf Traubenzuckerlösung von 4 Proz. (Grenze war hier 31° C). Für Aspergillus wurde eine Verschiebung des Maximums nur bei Ernährung durch Ameisensäure (Depression von 3° C) konstatiert.

Aehnlich können aber auch schon Konzentrationsänderungen wirken, so daß also gegebenenfalls Zunahme der Konzentration der Zuckerlösung das Temperaturmaximum um 4° C nach oben verschiebt. Glycerin und Ameisensäure bewirken da hinsichtlich der Keimung keine Aenderung, dagegen eine solche mit Rücksicht auf die Gesamtentwickelung, die speziell bei der Ameisensäure mit zunehmender Konzentration wieder in einer Depression zum Ausdruck kommt.

Der Einfluß der besonderen Reaktion der Nährlösung endlich ist zwar nur ein geringer, wenngleich ebenfalls wahrnehmbar. Merklich störend ist nur etwas stärkere Acidität, indem hier das Wachstum schlechter war als auf Substraten mit neutraler Reaktion.

Bezüglich der Temperatur-Minima wurden nur einige Orientierungsversuche vorgenommen, in denen für Penicillium eine Verschiebung durch die drei benutzten Substrate (Traubenzucker, Glycerin, Ameisensäure) nicht konstatiert werden konnte; das Minimum betrug ziemlich gleichmäßig 1,5—2° C. Etwas anders verhielt sich Aspergillus, der bei 6—8° C zwar noch auf den ersten beiden Substraten, dagegen nicht mehr auf Ameisensäure zur Keimung und Entwickelung kam (hier erst bei 10—12° C). — Die versuchten Temperaturen waren ziemlich konstant 0—2° C (Eisschrank), 6—8° C (Kellerraum), 10—12° (oberhalb des Eisschrankes). Für die Versuche über die Verschiebung des Maximums wurde das von Pfeffer beschriebene Wärmezimmer (mit konstanten Temperaturen) benutzt.

Verf. schließt mit dem Hinweis auf die Thatsache, daß also der Nährwert eines Stoffes von der Temperatur beeinflußt werden kann und somit bis zu einem gewissen Grade von dieser abhängig ist. Da wäre vielleicht auch ein Ausblick auf das Verhalten des Temperatur-Optimums dankbar gewesen, denn auch dies ist bekanntlich keineswegs immer konstant, sondern nach Ausweis des Verhaltens von Aspergillus niger gegenüber weinsaurem Ammoniak gelegentlich gleichfalls etwas variables.

Hinsichtlich mancher bemerkenswerter Details möge übrigens auf das Original verwiesen werden. Wehmer (Hannover).

Grüß, J., Die mikroskopische Untersuchung des gekeimten Gerstenkornes. (Wochenschr. f. Brauerei. 1896. No. 28. p. 730. Mit 1 Farbendr.-Taf.)

Stoffwandlungen im Endosperm.

Verf. verweist in einigen einleitenden Bemerkungen auf den Unterschied der Wirkung von Säure und Diastase auf Stärke, Cellulosen und Hemicellulosen, welche nach B. Tollens als Saccharo-Colloide bezeichnet werden.

Die sichtbaren Veränderungen des Stärkekorns unter dem Einfluß der Diastase bezeichnet man seit Nägeli als „Korrosion“. In der keimenden Dattel werden die verdickten Zellwände im Endosperm, dort wo sie sich lösen, zunächst hyalin, d. h. sie erhalten eine durchsichtige Randzone. Von Reiß wurde dieser Vorgang als „Abschmelzung von innen nach außen“ bezeichnet. Nachdem es dem Verf. gelungen war, in der Guajak-Wasserstoffsuperoxyd-Reaktion eine Methode aufzufinden, mit deren Hilfe man die diastatischen Enzyme unter dem Mikroskop erkennen kann, war es möglich, die physiologischen Vorgänge bei der Lösung der aus Saccharo-Colloiden bestehenden Produkte der Zelle zu erkennen. Danach zeigte es sich, daß das Enzym sich nicht immer gleichmäßig verhält. Beim Stärkekorn (J. Grüß: Ueber das Eindringen von Substanzen, besonders der Diastase in das Stärkekorn. Beiträge für wissenschaftl. Botanik. Stuttgart 1895) z. B. wirkt es nur an der Oberfläche der Substanz, und da dieselbe nicht an allen Stellen gleichmäßig widerstandsfähig ist, erfolgt auch die „Abschmelzung“ dementsprechend ungleichmäßig, was schließlich zur Bildung der Porenkanäle führen kann.

Bei der Einwirkung des Enzyms auf aus Hemicellulose zusammengesetzte Membranen dringt dasselbe in die Zellwand ein, indem dieselbe zugleich hydrolysiert wird und die Veränderungen sichtbar werden. Auf diese Weise entsteht die hyaline Korrosionszone, die sich unter dem Mikroskope durch dreierlei Eigenschaften von der intakten Wandmasse unterscheidet:

1) Die Doppelbrechung im pol. Licht ist abgeschwächt.

2) Die Widerstandsfähigkeit bei der Lösung durch Mineralsäuren ist geringer.

3) Das Verhalten gegen Farbstoffe hat sich geändert. Wird z. B. die intakte Membran von einem Farbstoff intensiv gefärbt, so läßt sich die Korrosionszone nur schwach färben und umgekehrt.

Im physiologischen Verhalten des diastatischen Enzyms sind also zwei Fälle zu unterscheiden:

1) Dasselbe dringt nicht in die zu invertierende Substanz (Stärke) ein, wodurch alsdann die sog. „Abschmelzung“ resultiert; oder aber,

2) es dringt in die Masse ein und bildet die Korrosionszone.

Verf. nennt den letzteren Vorgang Allöolyse, d. h. Lösung mit Veränderung.

Die Vorgänge bei der Allöolyse bestehen also darin, daß das Enzym zunächt in die Substanz eindringt und dabei gleichzeitig hydrolytisch auf dasselbe einwirkt; in der Folge wird dadurch die durchdrungene Zone substanziell verändert und schließlich gelöst. Die in der Natur vorkommenden, aus Hemicellulose bestehenden Zellhäute sind in der Regel aus zwei oder mehreren Verbindungen zusammengesetzt, welche bei der Einmischung von Enzymen eine verschiedene Widerstandsfähigkeit äußern. Bei der Allöolyse tritt daher meist eine „fraktionierte Lösung“ ein, d. h. der eine Bestandteil wird früher gelöst als der andere.

Das Verhalten der Zellhäute im Gerstenendosperm.

Brown und Morris (Researches on the germination of some of the Gramineae. London 1890) machten folgende Beobachtungen: Macht man durch ein Gerstenkorn, welches sich in den ersten Keimungsstadien befindet, einen Längsschnitt, so bemerkt man unter dem Mikroskope, daß die Zellhäute im Endosperm gelöst werden. An Schnitten von Körnern, die sich in verschiedenen aufeinander folgenden Keimungsstadien befinden, ist leicht zu erkennen, daß der Lösungsprozeß in der Nähe des Schildchens seinen Anfang nimmt und dann einwärts in das Endosperm nach dem Ende des Korns hin vorschreitet, und zwar unterhalb der Aleuronschicht etwas ausgiebiger als wie in der Mitte. Nach 8—9 Tagen der Keimung sind alle Zellwände gelöst; häufig findet man noch an der Spitze eine kleine Partie, welche intakt geblieben ist. Nachdem die Zellwände gelöst sind, werden auch die Stärkekörner angegriffen, und zwar zuerst in der Nähe des Schildchens.

Zu diesen Beobachtungen gelangt man ohne Färbemethoden. Wenn man dagegen die Schnitte färbt, so sieht man, daß die Zellhäute keineswegs gelöst, wohl aber korrodiert werden: sie unterliegen der Allöolyse. Infolge derselben werden sie für die Enzyme durchlässig. Der Prozeß verläuft sonst im ganzen so, wie er für die „Lösung“ der Zellhäute angegeben wurde.

Um die Korrosion der Zellwand zu erkennen, kann man am besten Kongorot anwenden. Dadurch wird die intakte Membran intensiv rot gefärbt, die durch Allöolyse korrodierte dagegen schwach hellrot.

Den Schnitt fertigt man in folgender Weise an: Die Schnittfläche von einem Korn bestreicht man mit Gummi arabicum-Lösung und läßt dieselbe eintrocknen. Von der trockenen Fläche kann man dünne Schnitte abnehmen, die man auf den Objektträger bringt und etwas anfeuchtet, wodurch sie sich aufrollen. Man setzt nun einen

Tropfen Kongorotlösung hinzu und spült nach einiger Zeit mit Wasser ab. Der Haupwert der Färbung liegt darin, daß man im Endosperm deutlich die intakten Zellhäute von den korrodierten unterscheiden kann. Die durch Allöolyse veränderten Membranen der Endospermzellen geben eine viel zartere Zeichnung, da sie durch Kongorot hellrot gefärbt werden. Die intakten, dunkelrot gefärbten Zellen sind von einer Uebergangszone umgeben, in denen die Zellhäute zum Teil korrodiert sind.

Die Stärkekörner werden erst angegriffen, nachdem die Membranen korrodiert sind.

Das Verhalten der Enzyme.

1) Das ungekeimte Gerstenkorn.

Um die Verteilung der diastatischen Enzyme im Gerstenkorne unter dem Mikroskope zu erkennen, muß man dieselben mittels der Guajakwasserstoffsuperoxydreaktion sichtbar machen. Die Untersuchung wird in folgender Weise ausgeführt: Ein trockenes, ungekeimtes Gerstenkorn wird durch einen Längsschnitt in zwei Teile geteilt, welche 10—15 Minuten in einer frisch bereiteten, hellbraunen Guajaklösung zu verweilen haben. Danach läßt man die Objekte an der Luft liegen, bis der Alkohol verdunstet ist.

Befeuchtet man nun die Schnittflächen mit einer verdünnten Lösung von Wasserstoffsuperoxyd, so wird das Gewebe da, wo es Diastase enthält, blau gefärbt. Von der Oberfläche kann in diesem Falle direkt ein Schnitt abgenommen werden, um ihn unter dem Mikroskope zu betrachten. An einem solchen Präparate erkennt man, daß die Zellinhalte vom Gewebe des Embryos und besonders vom Schildchen Diastase enthalten. Nur spurenweise findet sich das Enzym in den stärkeführenden Endospermzellen und zwar im Plasmanetze zwischen den Stärkekörnern.

2) Das gekeimte Gerstenkorn.

Hier muß man den ersten Schnitt verwerfen, weil durch das Schneiden mit dem Messer die einzelnen Bestandteile dorthin geführt werden, wo solche sonst nicht vorhanden sind. Der eindringende Alkohol schlägt aber die Diastase nieder und hindert so die Uebertragung.

Es zeigte sich jetzt, daß mit dem Einweichen die erste Veränderung in der Verteilung der diastatischen Stoffe vor sich geht. Wenn man eine Reihe von Körnern, welche sich in verschiedenen Keimungsstadien befinden, untersucht, so ist zu sehen, wie das Endosperm mehr und mehr an Diastase angereichert wird. Zuerst füllen sich die Zellen in der Nähe des Schildchens, und von hier aus werden immer weitere Gewebepartieen ergriffen. Die Art und Weise des Vorrückens dieses Prozesses ist so, wie für die Allöolyse angegeben.

Soll das gekeimte Gerstenkorn zum Darren reif sein, so müssen alle Endosperm zellen diastasehaltig sein; es darf also bei Anwendung der Guajakwasserstoffsuperoxydreaktion keine Stelle im Endosperm farblos bleiben. Ferner müssen in einem solchen Korne alle Zellhäute des Endosperms durch Allöolyse angegriffen sein.

Die Enzymbildung in besonderer Hinsicht auf die Mälzereipraxis.

Bringt man einige Gerstenkörner auf mit Wasser getränkte Glaswolle in einen sauerstofffreien Raum, welcher alsdann der für die Keimung günstigsten Temperatur ausgesetzt wird, so zeigt sich nach ca. 8 Tagen, bei Anwendung der Guajakwasserstoffsuperoxydreaktion, daß besonders die Zellhäute im Endosperm ganz mit Diastase durchtränkt sind. Die im Korne vorhandene Translokationsdiastase hat sich vom Embryo aus im ganzen Gewebe verteilt. Ein solches Korn mit der Färbungsmethode durch Kongorot untersucht, zeigt, daß die Zellhäute im Endosperm keine Spur von Allöolyse aufweisen; alle sind intakt geblieben. Die Translokationsdiastase ist also nicht im stande, die Zellhaut zu korrodieren.

Läßt man zu den Körnern mehr und mehr Sauerstoff hinzutreten, so erhöht sich dementsprechend der Diastasegehalt in denselben und die Zellhäute im Endosperm beginnen sich zu korrodieren. Durch die Einwirkung des Sauerstoffes wird die Sekretionsdiastase erzeugt, welche, stärkerwirkend, zunächst die Zellhäute und dann die Stärke anzugreifen vermag.

Hoffmann (Berlin).

Lindau, G., Zwei neue deutsche Pilze. (Hedwigia. 1896. Heft 2. p. 56—57. Mit Abbildg.)

Verf. beschreibt zwei neue ihm zufällig in die Hand gekommene Askomyceten: Chaetomium marchicum und Peziza (Humaria) alpigena, ersterer auf faulenden Blättern, letzterer auf Papier beobachtet.

Die Chaetomium-Art ist hauptsächlich durch das Fehlen der Conidienträger sowie die braunen citronenförmigen Sporen — die übrigens nicht keimfähig waren — charakterisiert. Die Peziza-Species unterscheidet sich von den ähnlichen der Gattung durch die geringe Größe (Fruchtkörper $^1/_2$—$^3/_4$ mm breit) und die fast spindelförmigen, kleinen Sporen. Sporen wie Schläuche beider Arten, sowie ein reifes Perithecium von Chaetomium sind in der Abbildung wiedergegeben.

Wehmer (Hannover).

Wagner, G., Beiträge zur Kenntnis der Coleosporien und der Blasenroste der Kiefern (Pinus silvestris und Pinus montana Mill.) (Zeitschr. für Pflanzenkrankheiten. Bd. VI. Stuttgart 1896.)

Durch das häufige Auftreten des Peridermium Pini (Willd.) Klebahn in den Beständen der sächsischen Schweiz sah sich Verf. veranlaßt, den durch dasselbe hervorgerufenen Krankheitserscheinungen sowie der Biologie des Pilzes selbst größere Aufmerksamkeit zu schenken. Er beobachtete in der genannten Gegend sowie an der böhmischen Grenze: Coleosporium Senecionis (Pers.) Fries. auf Senecio vulgaris, S. viscosus, S. silvaticus; dazu gehört Peridermium oblongisporum Fckl. auf Pinus silvestris. Von dieser allgemeinen Form trennt Verf. C. Senecionis

(Pers.) Form II. Diese beobachtete er auf Senecio Fuchsii Gm. und auf S. nemorensis L. Es steht offenbar mit Peridermium oblongisporum in keiner Beziehung, da es dem Verf. nicht gelang, erfolgreiche Aussaatversuche mit Sporen zu machen. Ferner wurde häufig gefunden: C. Tussilaginis (Pers.) Klebahn auf Tussilago Farfara L. samt dem dazugehörigen Peridermium Plowrightii Kleb. auf Pinus, C. Petasitis d. By. mit P. Dietelii Wgr., C. Euphrasiae (Schum.) Winter auf Euphrasia officinalis L., E. Odontites L., Alectorolophus major Rchb.

C. Melampyri (Rbent.) Klebahn auf M. nemorosum L.; das dazugehörige P. Soraueri fand Verf. nicht. Coleosporium Campanulae (Pers.) Lév. auf Campanula rotundifolia L., C. patula, C. rapunculoïdes L, C. Trachelium L., C. persicifolia L., C. macrantha.

Coleosporium Sonchi (Pers.) auf Sonchus oleraceus L.

Auf Adenostyles fand sich Coleosporium Cacaliae D.C.; das zugehörige Peridermium, bisher noch nicht bekannt, wurde vom Verf. auf Pinus montana gefunden: Peridermium Magnusii Wgr. Ebenso entdeckte Verf. auf Senecio subalpinus Koch ein neues Coleosporium, C. subalpinum Wgr., zu welchem auch ein auf den Nadeln von Pinus montana vegetierendes neues Peridermium Kriegerii Wgr. n. sp. gefunden wurde.

R. Zander (Berlin).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Krüger, Fr., Erfahrungen über die Verwendbarkeit des Petroleums als Insekticid. (Gartenflora. 1896. p. 99 u. 125.)

Zu den Versuchen diente eine Emulsion, bestehend aus Petroleum und grüner Seife. Außerdem enthielt dieselbe noch einige im allgemeinen unschädliche Substanzen, gegen die jedoch saugende Insekten außerordentlich empfindlich sind. Das Insekticid wird erhalten durch Emulsierung gleicher Teile Petroleum, Seife und Wasser. Mittels dieser Ingredientien werden vor ihrer Verarbeitung zur Emulsion die wirksamen Früchte von Solanum lycopersicum, des Quassiaholzes und der Tabaksblätter in der Weise extrahiert, daß hierbei keine empyrheumatischen Stoffe in Lösung gehen. Da die Herstellung einer solchen Emulsion für den Laien nicht ganz leicht ist, und andererseits gerade von der richtigen Herstellung der Emulsion der ganze Erfolg derselben abhängt, weil sie sich sonst leicht zersetzt und in diesem zersetzten Zustande dem pflanzlichen Organismus Schaden bringt, so kommt jetzt eine auf Veranlassung des Verf.'s von der Firma Klönne & Müller, Berlin, Louisenstraße 49 nach der obigen Vorschrift hergestellte Petroleumbrühe in den Handel, welche

sich die genannte Firma unter dem Namen „Dr. Krüger's Petroleumemulsion“ gesetzlich hat schützen lassen. Vor der einfachen, nur aus Seife, Petroleum und Wasser hergestellten hat dieselbe den Vorzug, daß sie das Ungeziefer, speziell Blattläuse, nicht nur tötet, sondern den Pflanzen auch vor dem Wiederbefalle einen längeren Schutz gewährt. Vor dem Gebrauche muß die Brühe, je nachdem sie bei zarten oder derberen Pflanzen angewendet werden soll, mit 10 bis 15 bis 20 Teilen Wasser verdünnt und tüchtig durchgeschüttelt werden. Die so erhaltene Brühe ist dann direkt gebrauchsfähig. Mit ihr werden alle von den Parasiten zu befreienden Teile der betr. Pflanzen tüchtig benetzt. Bei Topfpflanzen geschieht dieses am leichtesten, indem sie kopfüber in die Brühe eingetaucht und nach dem Herausnehmen noch einige Minuten in dieser Stellung gehalten werden, damit der Ueberschuß der Flüssigkeit abtropft. Größere Pflanzen, oder solche, die im freien Lande wachsen, werden mit der Brühe in möglichst feiner Verteilung auf der Ober- und Unterseite der Blätter, sowie auf den Trieben und speziell auf den Spitzen derselben bespritzt, am besten mit der sog. Peronospora-Spritze, welche die Flüssigkeit nebelartig verteilt. Unzweckmäßig sind hingegen die Garten- oder Blumenspritzen, welche einen viel zu starken Strahl geben. Es wird ferner bei Anwendung der letztereren unnötig viel Flüssigkeit verbraucht, man kann nicht alle Triebe der Pflanzen, namentlich die Seitentriebe, gut benetzen, und die aufgespritzte Flüssigkeit läuft, weil sie sich an einzelnen Stellen in zu großer Menge anhäuft, besonders bei behaarten Pflanzen, gleich wieder ab, ohne daß sie überhaupt diejenigen Stellen, an denen die Tiere sitzen, oder die Tiere selbst ordentlich benetzt hätte. Beim Mangel einer Peronospora-Spritze, die allerdings zur Bespritzung größerer Bestände unerläßlich ist, thut bei Bekämpfungen im kleinen auch ein gewöhnlicher Spray, wie er in allen Toilettegeschäften zu haben ist, wegen seiner feinen Bestäubung sehr gute Dienste.

Die Behandlung der Pflanzen geschieht am zweckmäßigsten an warmen, aber trüben Tagen oder gegen Abend. Eine Zeit mit hellem Sonnenscheine eignet sich nicht. Eine Bespritzung der Pflanzen im Sonnenscheine ist im vorliegenden speziellen Falle besonders aus dem Grunde zu vermeiden, weil der größte Teil der wirksamen Emulsionsbestandteile in trockener, heißer Luft, also bei Sonnenschein, sich zu schnell verflüchtigt, während die Seife als fester Ueberzug auf den benetzten Stellen sitzen bleibt.

Als vorteilhaft hat es sich erwiesen, der ersten Bespritzung nach etwa 2 Tagen eine zweite folgen zu lassen, nach welcher die Pflanzen in den meisten Fällen sauber sind, und man hat dann nur einer Neuinfektion durch Wiederholung der Bespritzung in gewissen längeren Zeiträumen vorzubeugen.

Die vom Verf. im Sommer 1895 gemachten und stets von günstigem Erfolg begleiteten Versuche wurden zum größten Teile mit der oben näher beschriebenen Emulsion ausgeführt. Sie beziehen sich zum Teil auf Treibhaus-, zum Teil auf Freilandpflanzen. Bezüglich der angestellten Versuche im einzelnen sei auf das Original verwiesen.

Da bei der Hantierung mit der Petroleumemulsion, im Gegensatze zum Amylokarbol, keine nachteilige Beeinflussung der Gesundheit der Arbeiter erfolgt, da die meisten Pflanzen eine Behandlung mit der Emulsion ohne Schaden vertragen, und da, allem Anscheine nach, auch andere saugende Parasiten durch das Mittel vernichtet werden, so dürfte diese blattlaustötende Emulsion wohl bald auch sich weiter als ein geschätztes Infekticid einbürgern.

Otto (Proskau).

Frank, A., Ueber Fanglaternen zur Bekämpfung landwirtschaftlicher schädlicher Insekten. (Landwirtschaftl. Jahrbücher. Bd. XXV. 1896. p. 483.)

Verf. hat seinerzeit auf die Moll'sche Fanglaterne aufmerksam gemacht, als ein Mittel, um auf dem Felde die Wintersaateulen abzufangen — Schmetterlinge, welche bekanntlich die den verschiedenen Pflanzen (Rüben, Kohl etc.) gefährlichen Edelraupen erzeugen. Da sich Frank damals überzeugt hat, daß diese Laterne die Wintersaateulen in Menge abfängt, so hat er eine genauere Prüfung der Wirkung solcher Laternen vorgenommen. Zur Prüfung gelangten drei Arten von Laternen, doch leistete die Moll'sche Fanglaterne weitaus das Beste im Abfangen der Insekten. Diese Laterne steht auf einem $1^1/_2$ m hohen Holzgestelle, welches derartig auf dem Felde aufgestellt wird, daß der Lichtschein möglichst weit die Umgebung beherrscht. In der Laterne befindet sich eine Petroleumlampe oder unter Umständen auch mehrere. Die Laterne hat 4 Glasscheiben und oben eine Bedachung mit Luftabzug, der von einer Sturmkuppe geschützt ist. Die 4 Glasscheiben der Laterne haben eine etwas geneigte Stellung, damit die an sie heranfliegenden Schmetterlinge herabgleiten und in 4 offene Kästen fallen, welche direkt unter diesen Glasscheiben stehen und mit Melasse gefüllt sind, worin die Insekten zu Grunde gehen. Da die Insekten bei schlechtem Wetter nicht fliegen, so ließ Frank die Laterne nur bei gutem Wetter nachts brennen. Die ertrunkenen Insekten wurden durch Rörig zoologisch bestimmt. In der Zeit vom 31. Mai bis 8. September wurden circa 4000 Insekten gefangen und erwiesen sich von dieser Menge, prozentisch ausgedrückt: ca. 17 Proz. als sehr schädlich, 31 Proz. als ziemlich schädlich, 7 Proz. als nützlich und 45 Proz. als indifferent. Unter den schädlichen Insekten war besonders die Wintersaateule vertreten, neben anderen schädlichen Eulen. Die Beobachtungen über die Flugzeit dieser Schmetterlinge haben ergeben, daß es zu ihrer Vernichtung genügt, die Lampe von der zweiten Hälfte Juli bis Ende August in Thätigkeit zu erhalten. Die Beobachtungen werden mit Feldfanglaternen einfacherer und billigerer Art fortgesetzt.

Stift (Wien).

Rovara, Fr., Erfahrungen mit Rovarin. (Oesterr.-Ungarische Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirtschaft. 1896. p. 407.)

Dieses chemische Mittel dient zur Bekämpfung des punktbäuchigen Hohlrüsslers (Cleonus punctiventris Germ.), welcher Rüssel-

käfer seit einem Vierteljahrhundert als der ärgste Feind des ungarischen Rübenbaues bekannt ist. Für die Bekämpfung hat sich in erster Linie Schweinfurtergrün als wirksam erwiesen, doch stößt aber die alleinige Anwendung dieses Giftes in der Praxis auf gewisse Hindernisse. Verf. mischte daher das Schweinfurtergrün mit entsprechend wirkenden Substanzen, welche einerseits eine Emulsion im Wasser herbeiführen und andererseits die schädliche Wirkung des Schweinfurtergrüns auf die Blätter der jungen Rübenpflanzen aufheben. Dieses Mittel wurde in Ungarn unter dem Namen „Rovarin“ patentiert. Die normale Verdünnung des Rovarins ist eine $2^1/_2$ proz. und man bedient sich dieser Emulsion zum Bespritzen sehr zarter junger Rüben, sowie zum Bestäuben der als Fangpflanze gebauten Rübe, überhaupt an allen jenen Stellen, welche erfahrungsgemäß den Ansturm der einwandernden Rüsselkäfer in erster Linie auszuhalten haben. Verf. behauptet auf Grundlage seiner eingehenden Beobachtungen, daß aufgegangene Rüben, welche mit Rovarin bespritzt werden, gegen den Rüsselkäfer gefeit sind. Die Bespritzung eines Hektars kommt auf fl. 4,60 zu stehen, da aber das Bespritzen des ganzen Feldes entbehrlich ist, so verringern sich die Kosten ganz bedeutend. Das Rovarin tötet nicht nur den Rüsselkäfer, sondern auch Aaskäfer, Erdflöhe, Lappenrüßler, Staubkäfer, ebenso verenden die an mit Rovarin bespritzten Ahorn-, Obst- und Roßkastanienbäumen befindlichen Maikäfer. Bis jetzt hat sich das Rovarin auf 5 Gütern mit über 430 Hektar Rübenbau glänzend bewährt. Stift (Wien).

Morárek, J., Mittel gegen den Rüsselkäfer (Cleonus punctiventris). (Oesterreich. landw. Wochenbl. 1896. p. 243.)

Verf. fand in Ungarn im Jahre 1879 zum erstenmale den Rüsselkäfer und wurden damals auf einer 39,5 ha großen Ackerfläche allein 13,15 hl dieses Schädlings gesammelt. Im heurigen Frühjahre gelang es Verf., ein Mittel aufzufinden, welches den Rüsselkäfer sicher tötet, der Pflanze nicht schadet, billig ist und für Tiere höherer Ordnung, sowie auch den Menschen keine Gefahr bildet. Dieses Mittel ist das Chlorbaryum, welches in Fluß- oder Brunnenwasser gelöst und auf die Rübe gestäubt wird. Die entsprechende Chlorbaryumlösung ist je nach Alter und Entwickelung der Rübenpflanze eine 2—4-proz. Das Bestäuben der Rübe geschieht nicht breitwürfig, sondern auf die Reihen, um mit dem Chlorbaryum zu sparen, um eine jede Rübenpflanze zu besprengen und um bei der Arbeit vom Winde nicht behindert zu werden. Ein zu starkes Bespritzen der Rübe ist unwirtschaftlich und könnte auch den Pflanzen schaden, weil das Chlorbaryum bei Anwendung zu starker Lösung oder in zu großer Menge eine ätzende Wirkung auf die zarten Pflanzenblätter ausübt und das Zellengewebe zerstört. Für normale Verhältnisse und in günstigen Jahren genügt ein zweimaliges Bestäuben der Rübe, und nur bei anhaltender Dürre und bei starkem Auftreten der Käfer ist ein drittes Besprengen der Rüben, kurz vor oder nach dem Vereinzeln, notwendig. Das Chlorbaryum kann für sich allein oder mit Beimischung klebriger Mittel (Gummi, Melasse etc.) angewendet werden.

Für 18 ha kostet ein zweimaliges Besprengen der Rübe fl. 29,87 und ein dreimaliges Besprengen fl. 56,40. Stift (Wien).

Hollrung, M., Siebenter Jahresbericht über die Thätigkeit der Versuchsstation für Nematodenvertilgung und Pflanzenschutz zu Halle a. S. 1895.

Der Bericht giebt zunächst eine Statistik der im Berichtsjahre ausgeführten Arbeiten, nach welcher die Station 609 Einsendungen zu erledigen hatte und enthält folgende wissenschaftliche Abhandlungen:

1) Untersuchungen über den Mageninhalt der Saatkrähe (Corvus frugilegus L.). Die Krähe gehört, was die Schädlichkeit oder die Nützlichkeit anbelangt, zu den vielumstrittenen Vogelarten. Als objektive Unterlage zur Beurteilung der Nützlichkeit oder Schädlichkeit einer Vogelart können u. a. die Magenuntersuchungen dienen und wurden hier die Untersuchungen ausnahmslos an der Species Corvus frugilegus L. in den Monaten April, Mai und Juni vorgenommen. Zur Untersuchung gelangte der Mageninhalt von 131 Krähen und lieferte die Klasse der Insekten und unter diesen wieder die Ordnung der Käfer den überwiegenden Teil der Krähennahrung. Sicher erkannt und bestimmt wurden 20 Käfergattungen mit 30 Arten und im ganzen 2607 Individuen. Verf. kommt nach seinen Untersuchungen zu folgenden Schlußergebnissen: a) Die untersuchten Krähen haben sich im großen und ganzen weder ausschließlich nützlich noch ausschließlich schädlich erwiesen. b) Ihre Nahrung hat zum vorwiegenden Teile (etwa 66 Proz.) in tierischen Objekten, und zwar Mäusen, Getreidelaufkäfer-Larven, Engerlingen, Maikäfern, Dungkäfern und Klee-Lappenrüßlern bestanden. Die pflanzliche Nahrung wurde von Weizen-, Hafer-, Gerstenkörnern und Kirschen gebildet. c) Der auf der einen Seite durch die Krähen verursachte Schaden wurde durch den anderenteils gebildeten Nutzen vollkommen aufgewogen und sogar noch um ein Bedeutendes übertroffen, doch in der Hauptsache nähren sich die Krähen von schwer beweglichen Insekten.

2) Die Präparation von Rübensamen nach der Jensenschen Warmwassermethode. Die Jensen'sche Methode (zur Verhütung des Wurzelbrandes), welche vom Reichspatentamte als nicht patentfähig erklärt wurde, besteht in nichts anderem als in einer Warmwasserbeize, welche lange Jahre hindurch von Jensen als das beste Mittel zur raschen Vernichtung des (gedeckten) Brandes bei Gerste und zur sicheren Beseitigung des nackten Flugbrandes hingestellt, neuerdings von ihm selbst aber als unpraktisch bezeichnet worden ist. Nach dieser Methode werden die zu präparierenden Rübenkerne vorerst 6 Stunden in Wasser eingequellt und dann die feuchte Rübensamenmasse an einem nicht zu trockenen Orte 10—12 Stunden lang sich selbst überlassen. Hierauf ist das Saatgut in heißes Wasser von $53\,^1/_2{}^0$ C 5 Minuten lang in der Weise einzutauchen, daß die Knäuel nach 10—15 Sekunden langem erstmaligen Verbleiben in dem heißen Wasser herausgehoben und erst nach einer mehrere Sekunden währenden Pause wieder eingetaucht werden u. s. f.

Die Masse ist dann mit kaltem Wasser rasch abzukühlen und dann in dünner Schicht zum Trocknen auszubreiten. Die genaue Ausführung dieser Methode gewährt nicht unbedeutende Schwierigkeit und gilt dies namentlich von der Warmwasserbeize.

Da aus den bisher mitgeteilten Versuchen Jensen's nicht ersichtlich ist, ob die Vorquellung oder die eigentliche Heißwasserbeize das wesentliche Moment der Methode ist und ob nicht vielleicht die Behandlung mit heißem Wasser relativ schädlich auf den Rübensamen wirkt, so hat Verf. eine Reihe von Untersuchungen mit einer größeren Anzahl von Rübensamenproben verschiedener Herkunft angestellt. Den Untersuchungen sind nun folgende Ergebnisse zu entnehmen: 1) Sowohl die Kaltwasserbeize (4 Stunden eintauchen, 8 Stunden Nachquellen an der Luft), wie die Jensen'sche Warmwasserbehandlung, sind von vorteilhafter Wirkung auf die Keimkraft des Rübensamens. Die Kaltwasserbeize wirkt besser als die Warmwasserbehandlung und ist zudem einfacher und praktikabler als letztere. 2) Die durch eine der genannten Präparationsmethoden erzeugte Steigerung der Keimkraft hält nach Versuchen im Sandkeim fast 60 Tage vor, sie ist nach Ablauf von 6 Monaten vollständig verschwunden. 3) In Freiland zeigen die Rübensamen 50 Tage nach der Präparation, sowohl was Keimziffer, als Wurzelbrandstärke, als Wachstumfreudigkeit anbelangt, bereits keinerlei Vorteile mehr gegenüber gewöhnlichen Rübenknäueln. 4) Die günstigen Keimungs- und Wachstumsverhältnisse, welche Jensen bei den nach seiner Methode präparierten Rübenkernen vorfand, sind ausschließlich der Einwirkung des kalten Wassers zuzuschreiben. Insofern bietet aber die Jensen'sche Präparationsweise gar nichts Neues, denn es ist eine längst bekannte Thatsache, daß „eingequellte" Rübensamen rascher keimen etc. als gewöhnliche. 5) Die durch eine Präparation nach Jensen's Warmwassermethode erzielte Verminderung des Wurzelbrandes ist bei Verwendung nicht frisch präparierten Rübensamens zu unbedeutend, um der Methode eine Zukunft zu sichern.

3) Bemerkungen über die im Jahre 1895 in der Provinz Sachsen aufgetretenen Pflanzenkrankheiten.

A. Schäden durch höhere Tiere. Da das Auftreten der Feldmäuse einen ganz ungewohnten Umfang annahm, so wurde der Loeffler'sche Bacillus typhi murium zur Vertilgung versuchsweise angewendet. Der Bacillus typhi murium verseucht und vernichtet unsere Feldmäuse. Da das Mittel weder für den Menschen, noch für die jagdbaren Tiere oder sonstigen nützlichen Feldbewohner eine Gefahr in sich birgt, ist es an und für sich dem Strychninweizen, dem Strychnin-Saccharinhafer, dem Stroh mit Phosphorlatwerge, den Phosphorpillen, Barytpillen und sonstigen Mäusepillen entschieden vorzuziehen. Dagegen sind drei Umstände der allgemeinen Einbürgerung hinderlich und zwar 1) die hohen Kosten der Bacillenkulturen, 2) die Thatsache, daß ein epidemisches Umsichgreifen des Mäusebacillus nur unter besonders günstigen Verhältnissen einzutreten scheint, 3) der Umstand, daß nur frisch bereitete Kulturen die erwünschte Wirkung äußern.

B. Schäden durch niedere Tiere. Der Getreidelaufkäfer, Zabrus gibbus, hat sich in unangenehmer Weise fühlbar gemacht. Zur Bekämpfung könnten nur chemische Mittel, welche ätzend oder erstickend wirken, von Erfolg begleitet sein. Die Aaskäferlarve, Silpha opaea, S. atrata, scheint sich nicht in dem Maße wie früher bemerkbar gemacht zu haben, dagegen hat aber der Liguster-Lappenrüßler, Otiorchynchus ligustici L. viel Schaden verursacht. Dieser Schädling legt im Mai und Juni seine Eier in die Erde ab und hat hier Ende Juli seine erste Generation vollendet. Im September erscheinen die Larven der zweiten Generation, welche vermutlich als Larve überwintern und anfangs April des darauffolgenden Jahres zum Käfer werden. Die Tiere zeigen eine außerordentliche Fähigkeit im Entbehren von fester und flüssiger Nahrung. Das Einsammeln der Käfer erfolgt am Boden durch Ausbreiten von alten Säcken, Blechen, Kistendeckeln etc. auf dem Felde, unter welchen sich die Käfer massenhaft ansammeln.

Der liniierte Graurüßler, Sitones lincatus, hat sich, was selten ist, Ende Mai an einer Stelle, in „Schwärmen“ gezeigt. Der Kornkrebs, Calanda granaria L. s. Sitophilus gr., auch schwarzer Kornwurm, Kornbock, Wippel, Klander genannt, hat große Ausbreitung gefunden und widmet ihm Verf. eine eingehende Behandlung. Zur Bekämpfung kennt man eine Reihe von Mitteln, welche je nach den lokalen Verhältnissen Berücksichtigung erfahren müssen. Von weiteren Schädlingen sind noch zu nennen: Der Erbsenkäfer, Bruchus pisi, der nebelige Schildkäfer, Cassida nebulosa, der Weinstockfallkäfer, Eumolpus vitis, die Stachelbeerblattwespe, Nematus ventricosus, die Kirschblattwespe, Eriocampa adumbrata; Rübenblattwespe, Atharia spinarum, ferner Raupenschäden durch die Kohlraupe, Mamestra oleracea, Apfelbaumgespinstmotte, Hyponomeuta evonymella u. a. Die Larven von Bibio hortulans, der Gartenhaarmücke, haben in großer Zahl die Köpfe der Rübenstecklinge befallen und viele ihrer jungen Triebe beraubt. Unter den Blattlausschäden hatten besonders die Zuckerrüben und namentlich die Rübensamen zu leiden, so daß Mißernten eintraten.

Die Rübennematoden, Heterodera Schachtii, haben bald mehr, bald weniger Schaden verursacht. Die bisherigen Bekämpfungsversuche mit Schwefelkohlenstoff haben im Allgemeinen ein ungünstiges Resultat ergeben. Ein gleiches gilt bezüglich der Vernichtungsversuche unter Anwendung starker Aetzkalkdüngung.

C. Schäden durch Pilzkrankheiten. Dieselben haben im Jahre 1895 allgemein viel Schaden verursacht. Der Brand hat an Weizen, Gerste und Hafer eine selten beobachtete Höhe erreicht. Der Mais fiel dem Beulen- oder Kaulbrand, Ustilago mapidis, anheim, auch der Rost, Puccinia sp. war häufig. Der Grasmehltau, Erysiphe graminis, ist in seinem Auftreten an Weizen sehr zurückgegangen. Die Kartoffeln sind im allgemeinen von Schmarotzerpilzen fast gar nicht befallen worden, während die Rüben mancherlei Beeinträchtigung gegen

Pilze, insbesondere durch die Herzblatt-Kräuselkrankheit, Peronospora Schachtii, erfahren haben. Peronospora arborescens De By. trat massenhaft auf Mohn auf. Auf schorfigen Rüben wurde der Pilz Phoma betae nachgewiesen, doch ist dieser Pilz nicht als solcher, sondern die Beschaffenheit des Bodens von maßgebendem Einfluß auf die Krankheitserscheinung. Der sog. Schorf der Rübe vermag aber in gutem Rübenboden (sandiger Lehmboden) keine Ausbreitung zu gewinnen.

Die Rotfäule der Rüben, Rhizoctonia violacea hat sich wenig gezeigt. Die Obstbäume wurden vielfach durch Polystigma rubrum und Sphaerotheca pannosa beschädigt.

D. Schäden durch atmosphärische Einflüsse. Die Zuckerrüben wurden häufig durch Blitzschläge geschädigt. Die Blätter waren gelblich gefärbt und welk, die Wurzel zeigte sich unmittelbar unter dem Kopfe leidlich gut erhalten, im Inneren gewöhnlich hohl und gebräunt, im untersten Teile vollkommen zusammengeschrumpft und hart. Stift (Wien).

Migula, Ein Beitrag zur Milchsterilisierung. (Dtsche tierärztl. Wochenschr. 1896. No. 15. p. 119—120.)

M. machte zufällig die Beobachtung, daß die Sporen einer Kartoffelbacillusart, welche sich in Milch durch Kochen auf keine Weise zerstören ließen, durch einstündiges Kochen getötet wurden, nachdem die Milch sauer geworden war. Verf. machte deshalb Versuche mit dem Bacillus anthracis und seinen im allgemeinen sehr widerstandsfähigen Sporen, da thatsächlich Uebertragungen von Milzbrand durch Milch vorgekommen sind. Er benutzte 4 verschiedene Kulturen, nämlich 1) eine avirulente, nur vereinzelt Sporen bildend, 2) eine seit 4 Jahren im Laboratorium fortgezüchtete, ebenfalls nicht mehr reichlich Sporen erzeugende, aber noch virulente, 3) eine sehr virulente und reichlich Sporen bildende und 4) eine asporogene Rasse. Es wurde das Verhältnis zur ungekochten Milch, die sofort nach dem Melken verwendet wurde, zur Milch, die $^1/_4$ Stunde unter Watteverschluß gekocht wurde und zur rohen saueren Milch im strömenden Wasserdampfe geprüft. Die Einwirkungsdauer betrug $^1/_2$—2 Stunden. In einer Tabelle sind die sämtlichen Versuche übersichtlich zusammengestellt, und man ersieht aus derselben, daß 2-stündiges Kochen noch nicht in allen Fällen genügt, um die Sporen der Milzbrandbacillen zum Absterben zu bringen, und daß sich auch hier ein rascheres Absterben der Sporen in sauerer Milch bemerkbar machte. Es sind dazu nur sehr geringe Säuremengen nötig, und man kann denselben Effekt auch erzielen durch Hinzufügen von etwas Säure (Salzsäure, Phosphorsäure, Milchsäure, Citronensäure) zu ganz frischer Milch in einem Verhältnis, daß noch keine Gerinnung eintritt. In der Praxis ist die Milch mit derart widerstandsfähigen Sporen aber durch Kochen so gut wie unsterilisierbar, da eine so langdauernde Erhitzung Geschmack und Aussehen wesentlich verändert. Hingegen wachsen Sporen in der

Milch oft schon in wenigen Stunden zu Stäbchen aus, die in diesem Zustande nun leichter zu vernichten sind.

Hierauf wäre vorkommenden Falles das Hauptaugenmerk zu richten. Deupser (Deutsch-Lissa).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

DR. WILHELM WINDISCH.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Bonhoff, Untersuchungen über Vibrionen und Spirillen. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXVI. 1896. p. 162—202.)

Glaister, J., Microbes; what they are and the parts they play. (Sanit. Journ. 1896. April. p. 64—87.)

Leichmann, G., Die Benennung der Milchsäure-Bacillen. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Jahrg. XIX. 1896. No. 38. p. 305.)

Lembke, W., Beitrag zur Bakterienflora des Darmes. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXVI. 1896. p. 293—327.)

Krassilschtschik, J. M., Sur les microbes de la flacherie et de la grasserie des vers à soie. (Compt. rend. hebdom. des séances de l'Acad. des Sciences. T. CXXIII. 1896. No. 9. p. 427.)

Smith, Annie Lorrain, Nomenclature of British Pyrenomycetes. (Journ. of Botany British and foreign. Vol. XXXIV. 1896. p. 358—359.)

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Cambier, A., Résistance des germes bactériens à la chaleur sèche. (Annal. de micrographie. 1896. No. 2. p. 49—54.)

Gautier, A., Les toxines microbiennes et animales. 8⁰. Paris (Soc. d'édit. scientif.) 1896. 15 fr.

Hennings, P., Beiträge zur Pilzflora Südamerikas. I. Einleitung von G. Lindau. Myxomycetes, Phycomycetes, Ustilagineae und Uredineae. (Hedwigia. 1896. p. 202—224.)

Juel, H. O., Ueber Aecidium Galii Pers. (Hedwigia. 1896. p. 173—174.)

Lortet, Influence des courants induits sur les bactéries vivantes. (Lyon méd. 1896. No. 17. p. 586—588.)

Lübbert, A., Ueber die Natur der Giftwirkung peptonisierender Bakterien der Milch. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXII. 1896. p. 2.)

Nobbe, F. u. Hiltner, L., Ueber die Anpassungsfähigkeit der Knöllchenbakterien ungleichen Ursprungs an verschiedenen Leguminosengattungen. (Die landwirtschaftl. Versuchsstationen. Bd. XLVII. 1896. p. 257—268. Mit 4 Taf.)

Ritthausen, H. u. Baumann, Ueber Zerstörung von Fett durch Schimmelpilze. (Die landwirtschaftl. Versuchsstationen. Bd. XLVII. 1896. p. 389—391.)

Sappin-Trouffy, Sur la signification de la fécondation chez les Urédinées. (Le Botaniste. Vol. V. 1896. p. 32—37. Avec Fig.)

Tassi, Flaminio, Altre specie nuove di micromiceti. III. (Atti della Reale Accademia dei Fisiocritici. Ser. IV. Vol. VIII. 1896.)

Thiele, R., Die Temperaturgrenzen der Schimmelpilze in verschiedenen Nährlösungen. [Inaug.-Diss.] 8⁰. 37 p. 6 Tab. Leipzig (Oskar Schack) 1896. 1,50 M.

Will, H., Einige Beobachtungen über die Lebensdauer getrockneter Hefe. (Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen. Jahrg. XIX. 1896. Neue Folge. No. 34. p. 453.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Bau, A., Ueber die Vergärbarkeit der Galaktose. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Jahrg. XIX. 1896. No. 38. p. 303.)
Gérard, E., Fermentation de l'acide urique par les microorganismes. (Compt. rend. T. CXXII. 1896. No. 18. p. 1019—1022.)
Kassner, G., Ueber die alkoholische Gärung der Wachholderbeeren. (Apotheker-Ztg. Jahrg. XI. 1896. p. 584.)
Krusius, Versuche über Anstellhefe. (Alkohol. Jahrg. VI. 1896. No. 28. p. 433.)
Rapp, R., Einfluß des Sauerstoffs auf gärende Hefe. (Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Jahrg. XXIX. 1896. No. 13. p. 1983.)
Reinke, Otto, Die Prüfung der Biere durch U-Röhrchen. (Wochenschr. f. Brauerei. Jahrg. XIII. 1896. No. 35. p. 899.)

Molkerei.

Bächler, C., Beiträge zur Erforschung des Gärungsverlaufes in der Emmenthaler Käsefabrikation. (Schweiz. landw. Centralbl. 1896. Heft 1—4.)
Knebel, Die Bedeutung der Bakteriologie auf dem Gebiete der Milchwirtschaft. (Fühling's landwirtschaftl. Ztg. 1896. Heft 3. p. 90—91.)
Der Pasteurisierapparat und seine Bedeutung für den genossenschaftlichen Molkereibetrieb. (Der Landwirt. Jahrg. XXXII. 1896. No. 59. p. 349.)

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Durante, D., Microrganismi nel latte di donne condizione sane, ricerche batteriologiche. (Pediatr. 1896. Gennajo.)

Luft.

Ficker, Martin, Zur Methodik der bakteriologischen Luftuntersuchung. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXII. 1896. p. 33—45.)

Wasser.

Apstein, Carl, Das Süßwasserplankton. Methode und Resultate der quantitativen Untersuchung. Mit 113 Abbildgn. Kiel u. Leipzig (Lipsius & Tischer) 1896. 7,20 M.
Preisich, K., Beurteilung des hauptstädtischen Trinkwassers vom bakteriologischen Standpunkte. (Magyar Orvosi Arch. 1896. No. 2.) [Ungarisch.]
Seiler, Frédéric, Von der bakteriologischen Reinheit eines Trinkwassers. (Schweiz. Wchschr. f. Pharmazie. Bd. XXXIV. 1896. p. 249—251.)

Boden.

Richter, L., Ueber die Veränderungen, welche der Boden durch das Sterilisieren erleidet. (Die landwirtschaftl. Versuchsstationen. Bd. XLVII. 1896. p. 269—275.

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Aderhold, Rudolf, Cladosporium und Sporidesmium auf Gurke und Kürbis. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VI. 1896. Heft 2. p. 72.)
B., Der frühe Kartoffelbrand. (Alkohol. Jahrg. VI. 1896. No. 37. p. 578.)
Brizi, Ugo, Eine neue Krankheit (Anthracnosis) des Mandelbaumes. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VI. 1896. Heft 2. p. 65. Mit 1 Taf.)
C. A. G. K., Der Schachtelhalm als Verbreiter von Krankheiten der Kulturpflanzen. (Der Landwirt. Jahrg. XXXII. 1896. No. 58. p. 343.)
Cavara, F., Ipertrofie ed anomalie nucleari in segnito a parasitismo vegetale. 8°. 8 p. Mit 1 lithogr. Taf. Pavia 1896.
Dangeard, P. A., Une maladie du peuplier dans l'ouest de la France. Note préliminaire. (Le Botaniste. T. V. 1896. p. 38—43.)
Döring, Die Bekämpfung der Rübennematode. (Der Landwirt. Bd. XXXII. 1896. No. 59. p. 349.)

Erikson, Jakob u. Henning, Ernst, Die Getreideroste, ihre Geschichte und Natur, sowie Maßregeln gegen dieselben. Bericht über die am Experimentalfeld der kgl. Schwedischen Landbau-Akademie in den Jahren 1890—1893 mit Staatsunterstützung ausgeführte Untersuchung. Mit 13 Taf. u. 1 Karte in Farbendr., sowie 5 Abbildgn. im Text. Stockholm (P. A. Norstedt & Sonner) 1896. 28 M.

*** Die entlarvte Gommose bacillaire in der Arader Weingegend. (Die Weinlaube. Jahrg. XXVIII. 1896. No. 38. p. 445.)

Grofs, G., Ueber das Einsammeln des Rüsselkäfers. (Blätter f. Zuckerrübenbau. 1896. p. 136.)

Hartig, R., Die Folgen des 1895er Spannerfraßes im Nürnberger Reichswalde. (Forstl. naturwissenschaftl. Ztschr. 1896. Heft 8.)

— —, Die Tannennadelmotte Argyresthia fundella F. R. (Loc. cit. Mit 2 Abbildgn.)

Hellriegel, Der Einfluß des Nematodenschadens auf die Zusammensetzung der Zuckerrüben. (Zeitschr. d. Landwirtschaftskammer f. d. Prov. Sachsen. 1896. p. 98.)

Hennings, P., Ueber eine auffällige Zellenkrankheit nordamerikanischer Abies-Arten im Berliner botanischen Garten, verursacht durch Pestalozzia tumefaciens P. Henn. n. sp. (Verhandl. d. bot. Ver. d. Prov. Brandenburg. 1895. p. XXVI.)

Die Landwirtschaftskammer für die Provinz Sachsen und die Vorschläge des Prof. Dr. Frank-Berlin, betr. die Bekämpfung der Herz- und Trockenfäule der Zuckerrüben. (Der Landwirt. Jahrg. XXXII. 1896. No. 58. p. 344.)

Lippert, Christian, Beitrag zur Bekämpfung des Rübenkäfers (Cleonus punctiventris Germ.) (Oesterr. landwirtschaftl. Wchbl. 1896. p. 123.)

Mangin, L., Sur la prétendue „Gommose bacillaire". (Extr. de la Rev. de Viticulture. 1896. p. 7.)

Massalongo, C., Sopra le foglie di Nerium Oleander L., deformate dall' Aspioditus Nerii Bouché. (Bollett. della Società Botanica Italiana. 1896. p. 120—123.)

Ráthay, Emerich, Ueber ein schädliches Auftreten von Eudemis botrana in Niederösterreich. (Die Weinlaube. Jahrg. XXVIII. 1896. No. 35. p. 409.)

— —, Nochmals über das schädliche Auftreten von Eudemis botrana in Niederösterreich. (Loc. cit. 1896. No. 38. p. 447.)

v. Renesse, A. u. Karus, L., Krankheiten der landwirtschaftlichen Kulturgewächse und deren Verhütung. (Landwirtschaftl. Ztg. Jahrg. XIV. 1896. p. 21.)

Rostrup, E., Værtplantens Indflydelse paa Udviklingen af nye Arter af parasitiske Svampe. (Oversigt over det kgl. Danske Videnskabernes Selskabs forhandlinger. 1896.) 8°. 22 p. Kopenhavn 1896.

Rovara, Friedrich, Der punktbauchige Hohlrüßler, Cleonus punctiventris Germ. (Wien. landwirtschaftl. Ztg. 1896. p. 264—272.)

Die Rübennematoden und ihre Bekämpfung. (Dtsche landwirtschaftl. Presse. Jahrg. XXIII. 1896. No. 55. p. 489.)

Sajó, Carl, Ueber das Auftreten einer neuen Kartoffelkrankheit. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. Jahrg. XIX. 1896. No. 33. p. 263.)

Schilberszky, K., Ein neuer Schorfparasit der Kartoffelknollen. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. 1896. p. 36—37.)

Smith, Erwin F., The bacterial diseases of plants: A critical review of the present state of our knowledge. (The American Naturalist. Vol. XXX. 1896. No. 356. p. 626.)

Thiele, Rudolf, Ueber eine Krankheit der Lindenblüten. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VI. 1896. Heft 2. p. 78.)

Thomas, Fr., Ueber die Lebensweise der Stachelbeermilbe, Bryobia ribis, und deren Verbreitung in Deutschland. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VI. 1896. Heft 2. p. 80.)

Der Traubenwickler (Tortrix ambiguella H.). (Dtsche landwirtschaftl. Presse. Jahrg. XXIII. 1896. No. 64. p. 569.)

Wagner, G., Beiträge zur Kenntnis der Pflanzenparasiten. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VI. 1896. Heft 2. p. 76.)

Webber, Herbert, J., Fertilization of the soil as affecting the Orange in health and disease. (Extr. from Yearbook of the U. S. Department of Agriculture for 1894.) 8°. p. 193—202. Washington 1895.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Behrens, J., Studien über die Konservierung und Zusammensetzung des Hopfens. (Wchschr. f. Brauerei. Jahrg. XIII. 1896. No. 31. p. 802.)
— —, Nachträgliche Beobachtungen über das Schwefeln des Hopfens. (Loc. cit. No. 37. p. 946.)
Bosc, F. J., Essais de désinfection par les vapeurs de formaldéhyde au moyen des procédés de M. Trillat. (Annal. de l'Instit. Pasteur. 1896. No. 5. p. 299—308.)
Noack, Die Dampfsterilisation mit besonderer Berücksichtigung ihrer Ergebnisse in der Praxis. (Dtsche tierärztl. Wchschr. Jahrg. III. 1895. No. 32.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

1896. Centralblatt Bd. II. No 18.
für Bakteriologie und Parasitenkunde.
II. Abteilung.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:
Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit
Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Prof. Dr. M. W. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg
herausgegeben von
Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

II. Band. Jena, den 30. Oktober 1896. **No. 19.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 16 Mark.

Original-Mittheilungen.

Ueber den Säureverbrauch der Hefen.

[Aus der pflanzenphysiologischen Versuchsstation in Geisenheim a. Rh.]

Vorläufige Mitteilung.

Von
Iwan Schukow
aus
Charkow.

Auf Veranlassung von Prof. Dr. Wortmann wurde von mir im Laboratorium der pflanzenphysiologischen Versuchsstation zu Geisenheim a. Rh. eine eingehende Untersuchung über die Einwirkung von Hefen auf verschiedene organische Säuren in Angriff genommen. Obgleich die Arbeit noch nicht abgeschlossen ist, so möchte ich doch jetzt schon über die Ergebnisse der bisher gemachten Versuche in Folgendem kurz berichten, einerseits, weil dieselben doch schon einige Schlüsse zu ziehen gestatten, andererseits, weil ich infolge meiner

Abreise aus Geisenheim genötigt bin, diesen Teil der Untersuchung abzuschließen.

Die Frage über die Einwirkung von Hefen auf organische Säuren ist zunächst von großem wissenschaftlichen Interesse, weil sie in wichtige Fragen der Ernährung, sowie auch der Gärthätigkeit der Hefezellen eingreift. Dann aber ist sie auch von besonderer praktischer Bedeutung, insofern es dabei auf die Abnahme der Säure in den Weinen während deren Gärung und Lagerung ankommt.

Schon früher hatte Pasteur nachgewiesen [1]), daß Hefepilze, wenn sie in einer Lösung von Weinsäure kultiviert werden, die rechtsdrehende Modifikation derselben aufnehmen, während die linksdrehende zunächst zurückbleibt.

Nägeli hat dann gefunden [2]), daß die Hefen ihren Kohlenstoffbedarf aus organischen Säuren, sowie vielen anderen organischen Verbindungen zu decken vermögen, doch bedürfen sie nach ihm dabei der Anwesenheit von freiem Sauerstoffe.

Was die Säureabnahme in Weinen während der Gärung und des Lagerns derselben anbetrifft, so sind die gemachten praktischen Erfahrungen von R. Goethe im Jahre 1883 folgendermaßen zusammengefaßt [3]):

„Die seitherigen Erfahrungen haben gelehrt, daß die Aepfelsäure der Fruchtsäfte nach und nach in einem gewissen Grade verschwindet, so daß Obstweine, die bei ihrer Fabrikation einen normalen Säuregehalt hatten, nach Jahr und Tag einen faden Geschmack annahmen, weil nachweislich ein gewisser Teil der Säure herausgefallen oder neutralisiert war.“

Speziellere einschlägige Beobachtungen an lagernden Weinen haben dann im Jahre 1888 A. Czéh und H. Müller-Thurgau [4]) gemacht und im folgenden Jahre hat Kulisch [5]) eingehendere Untersuchungen über die Säureabnahme in den Weinen veröffentlicht.

Später haben sich mit dieser Frage noch E. Mach und K. Portele [6]), H. Müller-Thurgau [7]) und J. Wortmann [8]) beschäftigt.

1) Zopf, Die Pilze. p. 194.

2) Nägeli, Ernährung der niederen Pilze. (Sitzungsberichte d. bayr. Akad. 1879.)

3) R. Goethe, Die Herstellung von Liqueurweinen etc. (Jahrb. für Gartenkunde und Botanik. Herausgeg. von J. Bouché und R. Herrmann. 1884.)

4) A. Czéh und H. Müller-Thurgau, Welche Vorgänge finden während der Gärung und der Weiterentwickelung des Weines statt? (Weinbau und Weinhandel. 1888. No. 14 u. 15.)

5) Kulisch, Ueber die Abnahme der Säure in Obst- und Traubenweinen während deren Gärung und Lagerung. (Weinbau u. Weinhandel. 1889. No. 42—44.)

6) E. Mach u. K. Portele, Ueber die Veränderungen im Gehalte von Gesamtsäure und Glycerin während der Gärung und Lagerung der Weine. (Landw. Versuchsstationen. 1892.)

7) Müller-Thurgau, Ergebnisse neuer Untersuchungen auf dem Gebiete der Weinbereitung. (Bericht des XII. Deutschen Weinbaukongresses.)

Ueber neuere Erfahrungen bei Anwendung der Reinhefen in der Weinbereitung. (Bericht d. XIV. Deutschen Weinbaukongresses.)

8) J. Wortmann, Untersuchungen über reine Hefen. (Landw. Jahrbücher 1894.) Ferner: Untersuchungen über den Einfluß der Hefemenge auf den Verlauf der Gärung, sowie auf die quantitativen Verhältnisse der Gärprodukte. (Weinbau und Weinhandel. 1895.)

Die Ansichten, die in den erwähnten Arbeiten über die Ursache dieser Säureabnahme ausgesprochen sind, gehen indessen weit auseinander.

Müller-Thurgau glaubte diese Erscheinung zunächst als einen rein chemischen Vorgang ansprechen zu müssen, indem er sagte[1]: „Deshalb dürfte die festgestellte Säureabnahme als Folge des Sauerstoffeinflusses, also eines Oxydations- oder Verbrennungsvorganges, die ungezwungenste Erklärung finden und zwar werden hieran voraussichtlich Gerbsäure und Aepfelsäure in erster Linie beteiligt sein." — In seiner späteren Abhandlung jedoch ist Müller-Thurgau auf Grund von eingehenderen Versuchen schon zu einer ganz anderen Anschauung gekommen, indem er die Säureabnahme der Thätigkeit von Bakterien zuschrieb. Diese Auffassung tritt in folgenden Worten Müller's klar zu Tage[2]:

„Bei Traubenweinen konnte ich eine derartige, durch Hefe bedingte Säureabnahme bisher nicht konstatieren, indem eine solche bei durch reine Hefe vergorenen und von fremden Organismen freigehaltenen Weinen in Hunderten meiner Versuchsweine nicht eintrat. Dagegen habe ich in neuerer Zeit in einer Reihe von Weinen, in welchen eine beträchtliche Säureabnahme stattgefunden hatte, Bakterien gefunden und zweifle auf Grund einer Reihe von Beobachtungen nicht daran, daß diese in manchen Fällen die Ursache der Säureabnahme sind."

Bei Besprechung von Gärversuchen, die Müller-Thurgau in Dürkheim im großen ausführte, sagt er des weiteren:

„Es handelt sich vielmehr um einen von der Versuchsanstellung unabhängigen Vorgang und kann mich dieses Resultat nur in meiner später durch Versuche im kleinen gewonnenen Anschauung, daß Bakterien hier im Spiele seien, bestärken. Gerade diese fetten Weine zeichneten sich durch reichliches Vorhandensein solcher aus.

Dieser Ansicht, nach welcher Bakterien und nicht die Hefe die Ursache der Säureabnahme sind, schließen sich auch E. Mach und K. Portele an, indem sie sagen[3]:

„Wir konnten bei Untersuchung einer Anzahl Weine in dieser Richtung nur dann eine merkliche Säureverminderung erkennen, wenn gleichzeitig auch Bakterien, sei es auch nur in geringer Menge, zur Entwickelung gelangten." — Sie fügen jedoch hinzu:

„Die Möglichkeit, daß die Aepfelsäure als Nährstoff der Hefe verbraucht werde, ist aber jedenfalls nicht auszuschließen."

Die eingehendsten Untersuchungen über die Säureabnahme, zumal was die quantitativen Verhältnisse anbelangt, hat Kulisch gemacht. Derselbe ist dabei zu der Auffassung gekommen, daß die Säureabnahme in den Weinen von der Hefe veranlaßt wird und daß sie somit kein rein physikalischer oder chemischer Vorgang ist.

„Die Säureabnahme konnte in solchen Weinen sofort unterbrochen

---

1) Müller-Thurgau. (Weinbau u. Weinhandel. 1888. No. 15. p. 134.)

2) Müller-Thurgau, Ergebnisse neuer Untersuchungen auf dem Gebiete der Weinbereitung. 1891. p. 21 f.

3) A. Babo und E. Mach. (Kellerwirtschaft. 1896. p. 143, 144.)

werden dadurch, daß man die Hefe durch Filtration entfernte oder durch Erhitzen der Flüssigkeit tötete [1]).

„Der pasteurisierte Teil des Weines hatte sich, wie die chemische Untersuchung zeigte, während der sechsmonatlichen Lagerung nicht wesentlich verändert. Die geringen Abweichungen in dem Ergebnisse beider Analysen liegen innerhalb der Fehlerquellen der Untersuchungsmethoden [2]).

„Er (der Versuch) macht einerseits, was aus einigen der oben mitgeteilten Versuche schon mit ziemlicher Gewißheit hervorgeht, noch wahrscheinlicher, daß die beobachtete Säureabnahme nicht ein rein physikalischer oder chemischer Vorgang ist, sondern durch die Lebensthätigkeit der Hefe verursacht wird [3]).“

Hiermit hat Kulisch die Unhaltbarkeit der Müller'schen Ansicht direkt dargethan und nachgewiesen, daß die Hefe die Säuren des Mostes verbrauchen kann, sowie daß der Sauerstoff dazu entbehrlich ist.

„Der Versuch zeigt, daß die Säureabnahme von dem Zutritte der Luft ganz unabhängig ist, da sie sich in einer ganz gefüllten und fest verkorkten Flasche vollzog [4]).“

Kulisch will in diesen Vorgängen eine Art von Gärung sehen.

„Da die Säureabnahme bei den eingehender in dieser Richtung untersuchten Weinen immer erst mit Beginn der Nachgärungen eintrat und mit dieser auch ihr Ende erreichte, so liegt es nahe, zwischen beiden Erscheinungen einen ursächlichen Zusammenhang derart anzunehmen, daß die Säure, und in geringer Menge vielleicht auch noch andere Extraktstoffe, welche nicht Zucker sind, durch die Hefe unter Kohlensäureentwickelung in einer des näheren noch unbekannten Weise zum Verschwinden gebracht werden [5]).“

Für die Hefen Ellipsoideus und Apiculatus, mit welchen Kulisch die Versuche anstellte, hat er gefunden, daß sie in gleicher Weise die Aepfelsäure verbrauchen, und was die Citronen- und Weinsäure anbetrifft, so wurde bei den Versuchen mit diesen Säuren keine Säureabnahme beobachtet.

„Eine Abhängigkeit der Säureabnahme von der Art der vorhandenen Hefe konnte nicht beobachtet werden [6]).

„Ob auch andere organische Säuren ein ähnliches Verhalten zeigen, konnte noch nicht entschieden werden. Bei Gärversuchen mit künstlichen Nährlösungen unter Zusatz von Citronen-, Wein- und Aepfelsäure wurde bisher nur eine Verminderung der letzteren beobachtet [7]).“

Nachdem auch Wortmann inzwischen im Jahre 1894 durch eine Anzahl von mit verschiedenen reinen Hefen durchgeführter Versuche die Säureabnahme in Weinen als direkt durch die Thätigkeit

1) Weinbau u. Weinhandel. 1889. No. 43. p. 459.
2) Ebendaselbst. 1889. No. 43. p. 460.
3) Ebendaselbst. 1889. No. 43. p. 460.
4) Ebendaselbst. 1889. No. 43. p. 460.
5) Ebendaselbst. 1889. No. 43. p. 460.
6) Ebendaselbst. 1889. No. 42. p. 450.
7) Ebendaselbst. 1889. No. 43. p. 460.

der Hefen ohne jede Mitwirkung von Bakterien bedingt nachgewiesen hatte und dabei noch des weiteren gefunden hatte, daß verschiedene Heferassen sich in ihren Ansprüchen an die Säure verschieden verhalten, hat dann Müller-Thurgau auch seine früher (1891) ausgesprochene und oben erwähnte zweite Ansicht von dem passiven Verhalten der Hefen und der Wirkung der Bakterien fallen gelassen und sich den Ansichten von Kulisch und Wortmann angeschlossen. Denn schon im folgenden Jahre (1895) sagt er in einem auf dem XIV. deutschen Weinbaukongresse in Neustadt a. H. gehaltenen Vortrage [1]:

„Die von anderer Seite festgestellte Thatsache, daß derselbe Most mit verschiedenen Heferassen vergoren, Weine von mehr oder weniger abweichendem Säuregehalte ergiebt, konnten wir bestätigen. Nach unseren Versuchen ist jedoch die Eigenschaft der Hefen, einen Teil der Säure zum Verschwinden zu bringen, nicht konstant, d. h. läßt man z. B. von zwei verschieden beschaffenen Weinen jeden in einer Anzahl von Versuchsgefäßen mit verschiedenen Heferassen vergären und ordnet die Hefen nach Maßgabe des Verschwindens der Säure, so erscheinen sie bei den beiden Weinen nicht in gleicher Reihenfolge. Insbesondere ergaben die Versuche mit künstlichen Nährlösungen große diesbezügliche Verschiedenheiten.

Wir haben den Eindruck erhalten, als ob diese Fähigkeit der Hefe wesentlich von der Art der Säure abhinge, von der Form, in welcher dieselbe vorhanden, sowie davon, ob die Ernährungs- und sonstigen Verhältnisse für die Hefe mehr oder weniger günstig sind. Es ist diese Frage der Säureabnahme des Weines durch die Gärung noch durchaus nicht gelöst [2], und da sie für alle Weine, ganz besonders aber für die mit Säure meist reich versehenen kleineren Weine, von großer Bedeutung ist, werden wir durch weitere Versuche zu ihrer Lösung beizutragen versuchen."

Die Ansichten, welche sich Wortmann auf Grund seiner erwähnten Untersuchungen gebildet hat, sind im Folgenden wiedergegeben:

„Vor der Hand bleibt der Vorgang der Säureabnahme, die Thätigkeit der Hefezelle und die eventuelle Mitwirkung des Sauerstoffes dabei noch eine offene Frage, wie es ebenso unerklärt bleibt, weshalb unter sonst gleichen Umständen in dem einen Weine viel, in dem anderen Weine dagegen wenig Säure verbraucht worden ist [3]."

Und später [4]:

„Nach Analogie mit höheren Pflanzen und auch mit Bakterien drängt sich die Anschauung auf, daß nach dem Verschwinden des Zuckers die Hefe mit den übrigen der Selbstgärung anheimfallenden Substanzen auch die Säure zerstört, und dieser Vorgang daher mit

1) Müller-Thurgau, Ueber neuere Erfahrungen bei Anwendung der Reinhefen in der Weinbereitung. 1896. p. 8.

2) Was übrigens auch Wortmann l. c. bereits nachdrücklich betont hatte.

3) Wortmann. Untersuchungen über reine Hefen. (Landw. Jahrbücher. 1894. p. 584.)

4) Wortmann, Untersuchungen über den Einfluß der Hefemenge auf den Verlauf der Gärung etc. (l. c.)

zu den Erscheinungen der Selbstgärung oder der inneren Zersetzung der Hefe zu rechnen ist."

Die Ansicht Wortmann's stimmt also mit der von Kulisch ausgesprochenen dahin überein, daß beide in der Säureabnahme einen durch die Hefe bewirkten Gärungsvorgang erblicken. Und dieser Auffassung ist, wie wir gesehen haben, zuletzt auch Müller-Thurgau beigetreten.

Wie aus dieser kurzen Uebersicht der Litteratur hervorgeht, ist schließlich die Ursache der Säureabnahme als auf der Thätigkeit der Hefezelle beruhend nachgewiesen und anerkannt.

Die Bedeutung dieses Vorganges indessen, d. h. die Rolle, welche die Hefezelle dabei spielt, die Art und Weise, wie die verschiedenen organischen Säuren sich dabei verhalten; inwiefern die Säureaufnahme seitens der Hefezelle in die Ernährungsprozesse derselben eingreift; die eventuelle Mitwirkung des Sauerstoffes; kurzum das Wesen des ganzen Vorganges bleibt doch noch einer genaueren Aufklärung vorbehalten.

Um zunächst einen festeren Boden für eine richtige Auffassung der Erscheinungen zu gewinnen, wurden folgende orientierende Fragen zur Untersuchung gestellt:

1) Können reine Hefen verschiedene organische Säuren verbrauchen?
2) Können diese Hefen sich gegen verschiedene organische Säuren verschieden verhalten?
3) Existiert ein Unterschied zwischen verschiedenen Heferassen in der Fähigkeit Säure zu verbrauchen?

Als organische Säuren wurden zunächst Aepfel- und Weinsäure gewählt und zwar aus dem Grunde, weil diese Säuren in den Obst- und Traubensäften vornehmlich enthalten sind und daher von großer Bedeutung für die Praxis der Weinbereitung sind. Einige weitere Versuche wurden auch mit Citronen- und Bernsteinsäure angestellt.

Die reinen Hefen, die ich für meine Versuche verwendete, habe ich aus der Hefereinzucht-Station zu Geisenheim a. Rh. (Weinhefen) und aus dem Hefereinzucht-Laboratorium der Vereins-Versuchs- und Lehranstalt für Brauerei in Berlin (Brauerei- und Brennereihefen) erhalten.

Die Versuche wurden, wie üblich, in Gärflaschen mit Schwefelsäuregärverschlüssen ausgeführt. Nur die Reihe von Versuchen mit verschiedenen Hefen (Tabelle V) wurden in Gärflaschen mit einfachen Watteverschlüssen, die man vom Staube durch Ueberdecken mit Glaskappen schützte, angestellt.

Die Gärflaschen wurden, nachdem sie mit abgemessenen Mengen von Nährlösung beschickt und im Dampfe sterilisiert worden waren, mit einer Platinöse von der betreffenden Hefe, die vorher in Most aufgefrischt worden war, geimpft und der Kork des Gärverschlusses darauf mit Paraffin luftdicht verkittet. Um den Gärungsverlauf zu verfolgen, habe ich meine Gärflaschen während der Gärung zunächst täglich und später etwa wöchentlich gewogen.

Wegen der großen Anzahl der angestellten Versuche ließen sich die Gärungen nicht in einem Thermostaten bei konstanter Temperatur durchführen, sondern sie verliefen im Laboratorium bei Zimmertem-

peratur, welche während dieser Zeit zwischen 16 und 23° C schwankte. Diese Temperaturschwankungen aber sind indessen ohne besonderen Einfluß auf die erhaltenen Resultate geblieben.

Bei Versuchen mit Sauerstoffzufuhr wurde das Lüften vermittelst Wasserluftpumpe durch ein steriles Wattefilter (Modell Berliner Laboratorium) vorgenommen.

Die Säurebestimmungen wurden in der Weise ausgeführt, daß in bestimmten Zwischenzeiten eine Menge von der Flüssigkeit (etwa 30 ccm) mit einer sterilen Pipette aus der Gärflasche unter Einhalten aller Vorsichtsmaßregeln herausgenommen und 20 ccm davon mit $^1/_{10}$ Normalnatronlauge titriert wurden. Als Indikator diente empfindliches Lakmuspapier. Bei solchen Säurebestimmungen wurden stets auch mikroskopische Untersuchungen der Hefe vorgenommen, um Reinheit der Gärung zu kontrollieren und ganz besonders, um die Veränderungen in dem Aussehen der Hefe während des Versuches zu verfolgen.

Die Resultate der Bestimmungen sind zunächst in folgenden Tabellen wiedergegeben:

Tabelle I.

Nährlösung A.
5 g Ammoniumphosphat,
1 „ Kaliumphosphat,
0,5 g Magnesiumsulfat
1000 ccm Brunnenwasser.

Säure zugesetzt: etwa 9—10 ‰,
Hefe: Steinberger 1893,
Temperatur: 16—23 ° C.

Gärflaschen mit Schwefelsäureverschlüssen.

Art der Nährlösung	Säuregehalt in g in 100 ccm Flüssigkeit nach Verlauf von Tagen				Säureverbrauch der Hefen während Tagen
	0	23	40	65	65
Nährlösung A. Weinsäure	0,907	0,890	0,844	0,795	0,112
„ „ Aepfelsäure	0,826	0,810	0,776	0,675	0,151
„ „ Citronensäure	0,975	0,937	0,862	0,712	0,263

Tabelle II.

Nährlösung B.
5 g Ammoniumphosphat,
1 „ Kaliumphosphat,
0,5 g Magnesiumsulfat,
10 g Dextrose,
1000 ccm Brunnenwasser.

Säure zugesetzt: etwa 9—10 ‰,
Hefe: Steinberger 1893,
Temperatur: 16—23 ° C.

Gärflaschen mit Schwefelsäureverschlüssen.

Art der Nährlösung	Säuregehalt in g in 100 ccm Flüssigkeit nach Verlauf von Tagen				Säureverbrauch der Hefen während Tagen
	0	30	60	75	75
Nährlösung B. Weinsäure	0,975	0,918	0,888	0,862	0,113
„ „ Aepfelsäure	0,901	0,833	0,742	0,708	0,193
„ „ Citronensäure	1,162	1,106	0,900	0,815	0,347
„ „ Bernsteinsäure	0,840	0,810	0,765	0,750	0,090

Aus diesen beiden Tabellen ist sofort ersichtlich, daß am meisten, und also auch am leichtesten, die Citronensäure von der Hefe verbraucht wird, dann folgt die Aepfelsäure. Wein- und Bernsteinsäure dagegen verbraucht die Hefe viel weniger; und besonders gering ist die Bernsteinsäureabnahme. In den Versuchen mit der Nährlösung A war die Hefevermehrung sehr gering (Zuckerabwesenheit) und die Menge der Hefen war unvergleichlich geringer, als in den Versuchen mit der Nährlösung B. Dieser Umstand scheint indessen keinen Einfluß auf die Menge der verbrauchten Säure gehabt zu haben.

Aus der folgenden dritten Tabelle sehen wir, daß bei den Versuchen mit der Nährlösung C die Menge der verbrauchten Säure im Vergleich mit der, mit den Nährlösungen A und B angestellten etwas größer geworden ist. Diesen Unterschied könnte man vielleicht der längeren Versuchsdauer zuschreiben, obschon der beobachtete Zuwachs des Säureverbrauches für einen Unterschied von nur 10 Tagen doch zu groß wäre. Es ergiebt sich aber auch eine ganz andere und viel wahrscheinlichere Erklärung dafür, wenn wir nämlich die Mengen der Säure, welche dieselbe Hefe von derselben Säure während derselben Zeit in verdünntem Traubenmoste einerseits und in der Nährlösung C andererseits verbrauchte, miteinander vergleichen. In verdünntem Traubenmoste ist der Säureverbrauch unter sonst gleichen Bedingungen zweimal so gering ausgefallen als in der Nährlösung C.

Tabelle III.

Nährlösung C.
10 gr Pepton,
100 „ Dextrose,
5 „ Kaliumphosphat,
0,5 „ Magnesiumsulfat,
1000 ccm Wasser,

Säure zugesetzt: etwa 9—10 ‰,
Hefe: Steinberger 1893,
Temperatur: 16—23 ° C.,

Traubenmost — Ball. 16,8 °,
Traubenmost, verdünnt = 1 Teil Most + 3 Teile Wasser,
Aepfelmost — Ball. 20,0 °,

Gärflaschen mit Schwefelsäureverschlüssen

Art der Nährlösung	Säuregehalt in gr in 100 ccm Flüssigkeit nach Verlauf von Tagen						Säureverbrauch der Hefen während Tagen
	0	6	12	18	54	85	85
Nährlösung C	0,045	0,180	0,240	0,210	0,150	0,105	0,060
„ „ + Aepfelsäure	1,012	1,012	0,979	0,877	0,810	0,742	0,270
„ „ + Weinsäure	1,050	1,069	1,106	1,050	0,964	0,926	0,124
Traubenmost	1,162	1,181	1,200	1,162	1,069	1,050	0,112
Aepfelmost	0,280	0,337	0,422	0,438	0,354	0,330	0,050
Verdünnter Most + Aepfelsäure	1,215	1,232	1,164	1,147	1,113	1,080	0,135
„ „ + Weinsäure	1,293	1,320	1,293	1,293	1,275	1,237	0,056

Dieser Unterschied findet demnach die wahrscheinlichste Erklärung in dem Umstande, daß der Nährwert der Nährlösungen für die Hefe ein ganz verschiedener ist.

Der verdünnte Most ist ein unvergleichlich schlechterer Nährboden für die Hefe als die Nährlösung C, und diesem Umstande müssen wir den beobachteten großen Einfluß auf die Menge der ver-

brauchten Säure zuschreiben, da ja alle anderen Bedingungen dieselben blieben.

Hierauf, nämlich auf die günstigeren oder weniger günstigen Gesamt-Ernährungsverhältnisse der Hefe, können wir auch den Unterschied im Säureverbrauch der Hefen in den Nährlösungen A und B einerseits und in der Nährlösung C andererseits leicht zurückführen: Pepton ist das beste stickstoffhaltige Nährmaterial für die Hefe, viel besser als Ammoniumsalze, und das ist der Grund, warum die Hefe in der Nährlösung C mehr Säure verbraucht hat, obschon die anderen Bedingungen zum Teil ungünstiger waren. Die Hefe hat auch in dieser Lösung viel mehr Alkohol produziert.

In der in Tabelle III angegebenen Versuchsreihe haben wir noch eine neue Erscheinung, nämlich den vorhergehenden Säure-Zuwachs und die erst später eintretende allmähliche Säureabnahme zu konstatieren.

Dieser Säurezuwachs ist gewiß durch die Bildung gewisser Mengen Bernsteinsäure bei der Gärung bedingt [1]). Diese Erscheinung konnte bei den Versuchen mit den Nährlösungen A und B nicht bemerkt werden. In der Nährlösung A deshalb nicht, weil kein Zucker vorhanden war, und in der Nährlösung B nicht, weil der Zuckergehalt nur ein sehr geringer war (1 Proz.), so daß, wenn dem Zucker entsprechende Mengen von Bernsteinsäure gebildet wären, man doch diese unbedeutende Säureabnahme durch Titration gar nicht würde nachweisen können.

Die Größe der Säure-Zunahme ist bei verschiedenen Nährlösungen sehr verschieden. Die bedeutendste Zunahme bemerkt man in den Nährlösungen, die vorher am wenigsten Säure hatten (Nährlösung C und Aepfelmost), denn in diesen Flüssigkeiten ist bei der späteren Säureabnahme zum Schlusse des Versuches noch ein kleiner Säureüberschuß geblieben.

Die beobachtete Säure-Zunahme aber stimmt durchaus nicht mit der Menge des vergorenen Zuckers; und beim Versuche mit der Nährlösung C, die einen Zusatz von Aepfelsäure bekam, hat sogar direkt eine Säureabnahme stattgefunden.

Wie diese in sich sehr verwickelten Erscheinungen aufzuklären sind, ob vielleicht die Bernsteinsäurebildung infolge der Gärung und die gleichzeitige Abnahme der in der Nährlösung vorhandenen Säure von einander ganz unabhängige Prozesse darstellen, oder ob die Bildung der Bernsteinsäure in der Weise von den spezielleren Gärungsbedingungen abhängt, daß die Menge der bei der Gärung gebildeten Bernsteinsäure mit der Zunahme der in der Lösung vorhandenen Säure abnimmt, so daß vielleicht bei gewissem Säuregrade gar keine Bernsteinsäure bei der Gärung gebildet wird, und weiter die damit wieder in Verbindung stehende Frage, in welchem Stadium der Gärung die Abnahme der in der Nährlösung vorhandenen Säure eintritt, behalte ich mir für die späteren Versuche vor.

1) Siehe Wortmann, l. c. S. 584.

Tabelle IV.

Traubenmost (Gau-Algesheim 1895): Ball. 18,3°,
Johannisbeerenmost: Ball. 14,4°,
Johannisbeerenmost, verdünnt: 1 Teil Most + 1 Teil Wasser,
Hefe: Steinberger 1893, Temperatur: 17—23° C,
Lüften: zweimal täglich je zwei Stunden.

Gärflaschen mit Schwefelsäureverschlüssen

	Art der Nährlösung	Säuregehalt in gr in 100 ccm Flüssigkeit nach Verlauf von Tagen 0	6	12	21	Säureverbrauch der Hefen während Tagen 21
Mit Lüften	Traubenmost	0,525	0,656	0,619	0,589	0,064
	Johannisbeerenmost	2,396	2,295	2,193	2,143	0,253
	Johannisbeerenmost, verdünnt	1,232	1,164	1,114	1,097	0,135
Ohne Lüften	Johannisbeerenmost	2,396	2,278	2,227	2,160	0,236
	Johannisbeerenmost, verdünnt	1,232	1,181	1,164	1,130	0,102

Die Versuche mit Sauerstoffzuleitung wurden auf diese Weise ausgeführt, daß die betreffende Nährlösung zweimal täglich je zwei Stunden hintereinander gelüftet wurde.

Nach den Ergebnissen scheint der Sauerstoff nicht viel Einfluß auf den Verlauf des Säureverbrauchs gehabt zu haben. Etwas größer aber scheint dieser Einfluß bei schlechteren Ernährungsbedingungen, im verdünnten Johannisbeerenmoste, zu sein.

Die Gesamtmenge des Säureverbrauchs in den Johannisbeerenmosten war überhaupt sehr groß für eine so kurze Versuchsdauer. Wir begegnen hier denselben Erscheinungen, die uns schon bei früheren Versuchen entgegengetreten waren. Der Säureverbrauch der Hefen in verdünnten Johannisbeerenmosten war viel kleiner als in unverdünnten, und diese Erscheinung dürfen wir in diesem Falle ebenfalls nur den Ernährungsbedingungen zuschreiben. Bei Johannisbeerenmosten ist infolgedessen direkt Säureabnahme eingetreten, ohne vorherige Säurezunahme.

Im Traubenmoste dagegen bemerken wir zuerst einen Säurezuwachs und erst später allmähliche Säureabnahme. Der Säureverbrauch in diesem Moste während der letzten 15 Tage ist nicht groß, und könnte man vermuten, daß in diesem Falle keine Aepfelsäure, sondern nur noch Weinsäure vorhanden gewesen ist.

Um den Einfluß, den die Rasse der Hefe auf den Säureverbrauch hat, nachzuweisen, wurde eine Reihe von Versuchen angestellt, die in Tabelle V zusammengefaßt sind.

Tabelle V.

Nährlösung D.
400 ccm Traubenmost,
600 ccm Wasser,
3 gr Weinsäure,
3 „ Aepfelsäure,

Nährlösung D: Ball. 6,2°,
„ D: Säuregehalt in gr in 100 ccm als Weinsäure berechnet = 0,960,
Temperatur: 16—23° C.

Gärflaschen mit Watteverschlüssen

	Art der Hefe	Säuregehalt der Flüssigkeit in gr in 100 ccm als Weinsäure berechnet nach 75 Tagen	Säureverbrauch der Hefen in gr auf 100 ccm während 75 Tagen	Säureverbrauch in Proz. des Säuregehaltes der Nährlösung D
1	Winningen 1892	0,847	0,113	11,7
2	Bari 1893	0,900	0,060	6,2
3	Ahrweiler 1892 (R.-W.)	0,900	0,060	6,2
4	Bordeaux 1893 (R.-W.)	0,911	0,049	5,1
5	Assmannshausen 1892 (R.-W.)	0,919	0,041	4,2
6	Ober-Ingelheim 1894 (R.-W.)	0,900	0,060	6,2
7	Rom 1894 (R.-W.)	0,919	0,041	4,2
8	Steinberger 1892	0,915	0,045	4,7
9	Schlofs Johannisberg 1892	0,866	0,094	9,8
10	Johannisberger 1893	0,881	0,079	8,2
11	Ungarn (Menes) 1894	0,919	0,041	4,2
12	Geisenheimer 1893	0,877	0,083	8,6
13	Rom 1894	0,900	0.060	6,2
14	Champagne (Ay) 1894	0,885	0,075	7,8
15	Würzburg: Stein 1892	0,843	0,117	12,2
16	Rüdesheimer Berg 1893	0,881	0,079	8,2
17	Forst 1893	0,915	0,045	4,7
18	Berncastel Doctor 1893	0,900	0,060	6,2
19	Rauenthaler Berg 1894	0,825	0,135	14,0
20	Oppenheimer 1894	0,881	0,079	8,2
21	Steinberger 1893	0,862	0,098	10,2
22	Weifsbierhefe (35)	0,881	0,079	8,2
23	Frohberg (Bierhefe)	0,882	0,079	8,1
24	Rasse II (Brennereihefe)	0,877	0,083	8,6
25	Logos	0,900	0,060	6,2
26	Octosporus	0,882	0,078	8,1
27	Apiculatus	0,750	0,210	21,9
28	Pombe	0,862	0,098	10,2*)
29	Saaz (Bierhefe)	0,900	0,060	6,2*)

Der Säureverbrauch in dieser Reihe von Versuchen ist sehr klein. Das mußte man aber erwarten nach den Ergebnissen der vorhergehenden Versuche, da die Nährlösung D nur geringen Nährwert für die Hefen hat und daher in dieser Hinsicht mit verdünntem Moste von früheren Versuchen zu vergleichen ist. Der Säureverbrauch durch die verschiedenen Heferassen hat sich sehr verschieden erwiesen. Den größten Säureverbrauch finden wir bei Apiculatus, und ich möchte mir diesen Umstand aus der Anspruchlosigkeit dieser Rasse für den Nährwert der Lösung erklären.

Von Weinhefen hat die Rauenthaler Hefe am meisten Säure verbraucht (14 Proz.), dann folgen: Würzburg: Stein, Winningen, Steinberger 1893, und Schloß Johannisberg (9,8—12,2 Proz.). Am wenigsten haben die Rotweinhefen Assmannshäuser (4,2 Proz.), Rom (4,2 Proz.) und die Hefen von südlichen Ländern: Menes, Bari, Rom verbraucht.

Die Bier- und Brennereihefen haben ziemlich wenig Säure, wahr-

*) Während 45 Tagen.

scheinlich infolge höherer Ansprüche an den Nährboden, verbraucht. Die Hefe Logos hat z. B. nur 6,2 Proz. verbraucht.

Die Hefe Pombe hat schon während 45 Tagen 10,2 Proz. Säure verbraucht, doch konnte ich leider diesen Versuch nicht weiter verfolgen infolge einer eingetretenen Infektion mit Penicillium glaucum.

Es erübrigt noch das mikroskopische Aussehen der Hefen während der Versuche kurz zu besprechen.

In allen Versuchen, ausgenommen die mit Nährlösung A, nachdem der Zucker vergoren war, erhielt ich stets folgendes mikroskopische Bild: Die meisten Zellen sind in den Ruhestand übergegangen, die Zellen haben kein Glykogen mehr. Unter diesen alten Zellen aber waren immer Kolonieen von jungen, sprossenden Hefen zu finden. Obwohl ich noch nicht bestimmt darüber entscheiden kann, habe ich doch den Eindruck erhalten, als ob die Anzahl von diesen jungen Kolonieen mit den Ernährungsbedingungen einerseits und mit der Art der vorhandenen Säure andererseits sich änderte, derart, daß um so zahlreichere junge Kolonieen zu finden waren, je bessere Ernährungsbedingungen vorhanden waren, und daß bei Citronen- und Aepfelsäure eine größere Anzahl von diesen Kolonieen als bei Wein- und Bernsteinsäure vorhanden waren. In den Versuchen mit der Nährlösung A war überhaupt sehr wenig Hefe, und dann größtenteils im sprossenden Zustande. Bei Beendigung der Untersuchung waren in diesen Versuchen in der Flüssigkeit viele Zellen mit Sporen zu finden. Ob diesen jungen sprossenden Hefen ein Säureverbrauch zuzuschreiben ist, läßt sich noch nicht bestimmt aussagen, obschon die Thatsache, daß bei den Versuchen mit den Nährlösungen A und B unter Anwendung verschiedener Mengen von Hefe fast dieselbe Säureabnahme erhalten wurde, solches sehr wahrscheinlich macht.

Die aus den Versuchen gewonnenen Ergebnisse lassen sich in folgenden Sätzen kurz zusammenfassen:

1) Die Hefen sind befähigt, Citronen-, Aepfel-, Wein- und Bernsteinsäure aufzunehmen und zu verbrauchen. Von diesen Säuren verarbeiten sie am leichtesten Citronensäure, sodann Aepfelsäure, viel weniger Weinsäure, und sehr wenig Bernsteinsäure.

2) Verschiedene Heferassen verbrauchen unter denselben Bedingungen verschiedene Mengen der genannten Säuren.

3) Die Intensität des Säureverbrauches hängt von der Ernährung der Hefen mit stickstoffhaltigen Nährstoffen und mit Aschenbestandteilen ab. Je reicher die Nährlösung an diesen Substanzen ist, und je besser demzufolge der Ernährungszustand der Hefen ist, desto mehr können sie von den vorhandenen Säuren verbrauchen.

Ich habe nur wenig Versuche gemacht, um die Frage bezüglich des Sauerstoffeinflusses zu entscheiden. Diese Frage sowie die hinsichtlich des Zeitpunktes, wann die Hefen anfangen die Säuren zu verbrauchen, will ich durch weitere Versuche zu entscheiden versuchen.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. Wortmann für Veranlassung zu dieser Arbeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Ueber eine neue Fruchtform eines Fumago-ähnlichen Pilzes, Antennaria scoriadea Berk.

Von

Dr. Neger

in

Concepcion.

Der bei Gay, Historia fisica i politica de Chile. Botánica. VII. p. 495 als Antennaria scoriadea Berk. bezeichnete im ganzen südlichen Chile sehr verbreitete Rußtau-ähnliche Pilz teilt mit seinen nächsten Verwandten (Cladosporium Fumago Link etc.) die Eigenschaft, eine größere Anzahl von verschiedenen Fruchtformen zu bilden. Dieselben sind im Centralblatt f. Bakt. u. Parasitenkunde vom Verf. beschrieben und abgebildet worden.

Im Anschluß an jene Arbeit sei hier noch eine Fruchtform behandelt, welche durch ihre von den bekannten typischen Formen abweichende Natur besonderes Interesse erweckt.

Zur Zeit der Winterregen sind die Blätter der vom genannten Pilz befallenen Pflanzen — besonders die mit harzigen Ausscheidungen bedeckten — stellenweise mit kleinen polsterartigen, schwarzen Klümpchen besetzt, welche man makroskopisch für Perithecien halten möchte.

Diese Körper zeichnen sich durch einen hohen Grad von Quellfähigkeit aus und nehmen, vom Regen benetzt, ein zwei- bis viermal so großes Volumen ein als im trockenen Zustande.

Für gewöhnlich ist die Gestalt dieser Körper kugelig mit abgestutzter Bodenfläche, im üppig entwickelten Zustande mehr oder weniger langgestreckt, sehr häufig unregelmäßig sternförmig, nicht selten mit verzweigten Strahlen.

Ihre Größe ist sehr verschieden. Die einfachen kugeligen Körper besitzen einen Durchmesser von durchschnittlich 200—300 μ, die sternförmigen erreichen eine Größe von 1—3 mm (im feuchten Zustande).

Im jugendlichen Stadium haben sie das Aussehen von schwach grau-braunen, aus unzähligen winzigen Bläschen zusammengesetzten Polstern.

In einer späteren Entwickelungsstufe läßt sich schon deutlicher der Unterschied zwischen einer dunkeln peripherischen (Rinden-) Schicht und einer farblosen centralen Masse erkennen. Bald erfolgt an der Peripherie die Ablösung von klumpenförmigen vielzelligen Körpern, welche unter geeigneten Umständen in Wasser zu einem Mycel auskeimen und an die als Coniothecien bezeichnete Conidienform von Cladosporium Fumago Link erinnern.

Sie haben eine durchschnittliche Größe von 30 μ und sind gewöhnlich dunkel grau-braun gefärbt.

Die genannten Coniothecien-ähnlichen Sporen sind das einzige Produkt jener kugeligen oder sternförmigen Polster.

Nie habe ich beobachtet, daß neben denselben andere Sporenfrüchte — etwa Spermogonien oder Pycniden — gebildet werden. Zugleich ist beachtenswert, daß diese Fruchtform zur Zeit der Winterregen weitaus die häufigste ist.

Sehr merkwürdig ist das Verhalten dieser Körper gegen Chlorzinkjod.

Zerdrückt man einen Fruchtkörper unter dem Deckglase, so beobachtet man, daß die farblose Centralschicht aus unzähligen, stark lichtbrechenden, bläschenartigen Kugeln besteht (wohl Zellanlagen), welche perlschnurartig aneinander gereiht, oder von einander relativ weit getrennt und in eine schleimige bis gelatinöse Masse eingebettet sind. Diese letztere wird durch Chlorzinkjodlösung entweder braunrot oder intensiv blau gefärbt und zugleich stark kontrahiert.

Während die braunrote Färbung unzweifelhaft als Glykogenreaktion aufgefaßt werden darf, weist die Blaufärbung auf eine stärkehaltige Natur hin; der letztere Zustand scheint der ursprünglichere zu sein, obwohl merkwürdigerweise zuweilen alte völlig gereifte Fruchtkörper noch Blaufärbung zeigen, jugendliche unreife hingegen braun-rot tingiert werden. Die Coniothecien-ähnlichen Sporen werden immer braunrot. Uebergänge der einen zur anderen Färbung in der Centralschicht kommen vor.

Beim Erwärmen mit verdünnten Säuren werden alle Teile, mit Ausnahme der reifen Sporen gelöst. Die Bildung der beschriebenen Fruchtkörper scheint von beliebigen Teilen des vegetativen Mycels auszugehen und ihr Zustandekommen hauptsächlich durch klimatische Faktoren bestimmt zu werden. Wenigstens habe ich stets beobachtet, daß sie (wie schon erwähnt) zur Zeit der Winterregen den Höhepunkt ihrer Entwickelung — individuell und numerisch — erlangen, ohne jedoch zu anderen Jahreszeiten völlig zu verschwinden [1]).

Auf einen mutmaßlichen Zusammenhang zwischen dieser Erscheinung und den physikalischen und chemischen Eigenschaften jener Fruchtkörper wage ich nur kurz hinzuweisen.

Zunächst mag die große Quellbarkeit von Nutzen sein, um die Regenzeit zu überdauern. Das in ihnen angehäufte plastische Material — stärkeähnliche Substanz und Glykogen — stammt möglicherweise aus den Zersetzungsprodukten der ätherischen Oele und Harze, welche zur Winterszeit besonders reichlich von den betreffenden Wirtpflanzen abgeschieden werden.

Auf Boldoa fragrans, welche — wie der Name schon andeutet — eine der aromatischsten Pflanzen Chiles ist, erreichen die Fruchtkörper oft eine außerordentliche Größe [2]).

Mit Eintritt der sommerlichen Trockenheit, welche durch die zu jener Zeit vorherrschenden, überaus trockenen Südwinde noch ge-

1) Es ist zu beachten, daß im kälter gemäßigten Teile des südlichen Chile der Unterschied der Jahreszeiten wenig ausgeprägt ist. Hier dürfte für die Bildung dieser Fruchtkörper der Standort maßgebend sein.

2) Im Hinblick auf die abnorme Anhäufung von Glykogen wäre vielleicht die Auffassung, daß dieselben die Rolle von Sklerotien spielen, nicht ganz von der Hand zu weisen. (Vergl. Errera, Les réserves hydrocarbonées des Champignons. Comptes rend. 1885.)

fördert wird, erfolgt eine bedeutende Verringerung des Volumens; die vielzelligen Sporen (Coniothecien) lösen sich los (z. T. durch gegenseitigen Druck), werden vom Wind leicht weitergeführt und können an noch feuchten Orten keimen.

Die Wirtpflanzen, auf welchen ich Coniothecien bildende Fruchtkörper beobachtet habe, sind:

Eugenia raran Colla, E. planipes Hook. et Arn. und andere Myrtaceen.

Boldoa fragrans Gay.

Laurelia aromatica Spr.

Escallonia pulverulenta Pers.

Referate.

Kayser, M. E., Beitrag zur Fabrikation von Gerstenwein. (Annal. de l'Instit. Pasteur. 1896. p. 346.)

Angeregt durch die Arbeiten Pasteur's, hat M. Jacquemin und später Ordonneau und Morin mit Weinsäure versetzte Malzwürze durch Weinhefe vergären lassen und so ein Getränk erhalten, welches dem Weine sehr ähnlich gewesen wäre, wenn es nicht bis zu 60 g Trockensubstanz im Liter enthalten hätte. Verf. suchte die Menge der Trockensubstanz dadurch zu erniedrigen, daß er die Maische bei 60° hielt und die Diastase nicht durch Aufkochen zerstörte, vielmehr wurde die Sterilisierung durch ein Chamberlandfilter vorgenommen. Es wurde vergleichend eine Weinhefe, eine Bierhefe und eine Obstweinhefe untersucht. Eine Weinhefe wurde in einem Parallelversuche in eine Würze, welche bei 120° und in eine andere, welche durch ein Chamberlandfilter sterilisiert worden war, eingesät.

Die Würze, welche die Diastase durch das Aufkochen verloren hatte, enthielt nach der Vergärung viel mehr Trockensubstanz, Dextrin und selbst Maltose als die andere. Die Trauben- und die Obstweinhefe, welche für gewöhnlich in saueren Flüssigkeiten leben, verhielten sich fast völlig gleich und blieben in der Vergärung hinter der Bierhefe zurück, welche die Vergärung, die Verminderung des Dextrins und des Extraktes viel weiter als die übrigen Hefen treibt.

Da die Sterilisation durch das Chamberlandfilter nicht so praktisch ist wie diejenige durch Aufkochen, so versuchte Verf. in der Weise zum Ziele zu kommen, daß er nur einen Teil der Würze filtrierte und den anderen aufkochte; in der That wurde hierdurch der Dextringehalt vermindert. Der Zusatz von nur einem Viertel in der Kälte sterilisierter Würze genügte, um 80 Proz. Dextrin der bei 120° sterilisierten Würze zum Verschwinden zu bringen.

An Stelle des Malzes wurde auch fein gemahlene, durch Dämpfen aufgeschlossene Gerste, der die nötigen Mengen von Malz zur Ver-

zuckerung zugesetzt wurden, verwendet. Verf. teilt drei diesbezügliche mit verschiedenen Hefen durchgeführte Versuchsreihen mit. Eine Geschmacksverbesserung des Produktes wurde durch Zusatz von Weinsäure oder Weinstein erhalten.

Von Interesse ist auch hier wieder das Verhalten der verschiedenen Hefen gegenüber dem Dextrin.

Am besten bedient man sich zur Darstellung des Gerstenweines grob gemahlenen Gerstenmehles, welches in den bei der Spiritusfabrikation gebräuchlichen Kochapparaten verkleistert wird. Sobald dasselbe auf 60° abgekühlt ist, giebt man 30 Proz. Malz hinzu und führt die Verzuckerung bei 60° durch. Nach dem Abläutern und dem Aussüßen der Träbern setzt man 1—2 g Weinsäure oder gereinigten Weinstein zu und läßt bei 20° mit einer energisch wirkenden Hefe vergären. H. Will (München).

Tassi, Fl., Specie nuove di micromiceti. Quarta comunicazione. (Atti della R. Accademia dei Fisiocritici. Serie IV. Vol. VIII.) 8°. 10 p. Siena 1896.

Verf. stellt folgende neue Arten auf, von welchen hier die sporologischen Charaktere kurz zusammengefaßt werden:

Phomatospora Mapaniae: Schläuche cylindrisch, 36—40 = 4—5, ohne Paraphysen; Sporidien einreihig, ellipsoidisch, mit 2 Tröpfchen versehen, 4—4,5 = 2—2,5, farblos. [Spermatien fast eiförmig, 2 = 1,2, farblos.]

Hab. auf Mapania humilis im botanischen Garten von Siena.

Pleospora aurea: Schläuche cylindrisch, 70—80 = 16—18, ohne Paraphysen; Sporidien elliptisch, später mit 3 Scheidewänden versehen (wovon das dritte Fach der Länge nach geteilt ist), 16—20 = 7—8, goldfarbig.

Hab. auf den Aestchen von Osyris alba bei „S. Giovanni d'Asso“ in der Umgebung von Siena.

Teichospora Diospyri: Schläuche cylindrisch-keulenförmig, 8-sporig, 150—200 = 24—30; Sporidien länglich-eiförmig, fast spindelförmig, später mit 5—7 Scheidewänden versehen (die Fächer mauerförmig geteilt), 32—36 = 14—16, rußfarbig.

Hab. auf der Rinde von Diospyrus virginiana im Garten des Klosters „Monte Oliveto“ bei Siena.

Ophiobolus acuminatus var. minor: Schläuche cylindrisch, seltener keulenförmig, gestielt, 100—120 = 10, von fadenförmigen Paraphysen begleitet; Sporidien 50—80 = 2—3.

Hab. auf den getrockneten Stengeln von Cirsium arvense bei „Monte Oliveto“.

Hysterium Melaleucae: Schläuche cylindrisch bis fast keulenförmig, kurz gestielt, 8-sporig, 80—100 = 12—14, von fadenförmigen Paraphysen begleitet; Sporidien länglich-ellipsoidisch, triseptiert, 16—18 = 5,5—6, zuerst farblos, später rußfarbig. (Spermatien cylindrisch, 2—2,5 = 0,3—0,5.)

Hab. auf der Rinde von Melaleuca armillaris im botanischen Garten von Siena.

Phyllosticta Aristolochiae: Sporulen eiförmig bis ellipsoidisch, beiderseits abgerundet, 4—5 = 2.

Hab. auf den Blättern von Aristolochia sempervirens im botanischen Garten von Siena.

Phoma Heimiae: Sporulen eiförmig, 6 = 2—3, farblos.

Hab. auf den getrockneten Aestchen von Heimia salicifolia im botanischen Garten von Siena.

Phoma Pseudocapsici: Sporulen zahlreich, eiförmig, 4—5 = 2—3,5, farblos.

Hab. auf den abgestorbenen Aestchen von Solanum Pseudocapsicum im botanischen Garten von Siena.

Phoma Heliotropii: Sporulen cylindrisch, gerade, beiderseits abgerundet, 4—4,5 = 0,5—2, farblos.

Hab. auf den abgestorbenen Aestchen von Heliotropium peruvianum im botanischen Garten von Siena.

Phoma Banisteriae: Sporulen länglich, später mit 2 Tröpfchen versehen, 6 = 2.

Hab. auf den dürren Aestchen von Banisteria chrysophylla im botanischen Garten von Siena.

Macrophoma Achyranthes: Sporulen länglich-cylindrisch, beiderseits abgerundet, 16—17 = 4—5, farblos.

Hab. auf den getrockneten Stengeln von Achyranthes Verschaffeltii im botanischen Garten von Siena.

Dendrophoma microsporella: Sporulen zahlreich, cylindrisch bis ellipsoidisch, beiderseits abgerundet, sehr klein, farblos.

Hab. auf den abgestorbenen Aestchen von Diospyros Lotus im botanischen Garten von Siena.

Chaetophoma Mimuli: Sporulen ellipsoidisch, sehr zahlreich, 5—6,5 = 2, farblos, mit 2 Tröpfchen versehen.

Hab. auf den Kelchen und Früchten von Mimulus hybridus im botanischen Garten von Siena.

Chaetophoma alliicola: Sporulen fast eiförmig, 8—10 = 2—2,5, farblos, oft mit 2 Tröpfchen versehen.

Hab. auf den Blüten von Allium neapolitanum im botanischen Garten von Siena.

Fusicoccum indicum: Sporulen länglich-eiförmig, an Enden verschmälert, farblos, 6—7 = 2, später mit körnigem Inhalt.

Hab. auf der Frucht von Balsamodendrum, Singapore (Asien).

Coniothyrium abyssinicum: Sporulen fast kugelig, 8—10 μ Durchm., rußfärbig, mit einem großen Tröpfchen versehen.

Hab. auf den abgestorbenen Stengeln von Brayera anthelminthica in Abyssinien.

Diplodia radicicola: Sporulen eng ellipsoidisch, zuerst einzellig, später mit einer Scheidewand versehen, 20—22 = 4—5, rußfarbig.

Hab. auf den Wurzeln von Aristolochia Serpentaria, Virginia (Nord-Amerika).

Diplodia Barringtoniae: Sporulen fast eiförmig, zuerst einzellig, später mit 1 Querwand versehen, 24—26 = 10—13, rußfarbig.

Hab. an getrockneter Früchten von Barringtonia speciosa, Tasmania.

Diplodia Bumeliae: Sporulen länglich-eiförmig, gerade, mit abgerundeten Enden, zuerst einzellig und farblos, später zweizellig, 14—18 = 6—8, rußfarbig.

Hab. auf den gerindeten abgestorbenen Aestchen von Bumelia lycioides (mit Phoma Bumeliae Tassi gesellig) im botanischen Garten von Siena.

Ascochyta Hyacinthi: Sporulen oblong, 7—9 = 2—3, mit abgerundeten Enden, zuerst ein-, später zweizellig, farblos.

Hab. auf den verwelkten Blättern von Hyacinthus orientalis im botanischen Garten von Siena.

Ascochyta Orobanches: Sporulen zahlreich, eiförmig bis oblong, hell olivenfarbig oder farblos, zuerst ein-, später zweizellig, 4—6 = 2—3.

Hab. auf der Blumenkrone von Orobanche (mit Phoma Orobanches C. Massal. gesellig) im Garten prope „Porta Tufi" in Siena.

Diplodina Malcolmiae: Sporulen länglich-eiförmig, gerade, tröpfchenlos, zuerst ein-, später zweizellig, 9—10 = 4, fast farblos.

Hab. auf den Stengeln von Malcolmia bicolor im botanischen Garten von Siena.

Stagonospora Diospyri: Sporulen cylindrisch, gerade, an beiden Enden abgerundet, 4-zellig, 12—13 = 3—4, farblos, auf kurzen Basidien sitzend.

Hab. auf dem abgerindeten Holze von Diospyros virginiana im Garten des Klosters „Monte Oliveto" bei Siena.

Septoria Banisteriae: Sporulen stäbchenförmig, gerade oder gekrümmt, stumpf, 12—14 = 0,5—2, farblos.

Hab. auf den Blättern von Banisteria chrysophylla im botanischen Garten von Siena.

Rhabdospora microstoma: Sporulen fadenförmig, gerade oder ziemlich gekrümmt, an den Enden gestumpft, 18—20 = 0,7—1, farblos.

Hab. auf den Blattstielen von Hepatica triloba im Walde „Monaca" bei Siena.

Zythia Atriplicis: Sporulen eiförmig, 5—7 = 4—4,5, farblos oder grünlich-körnig.

Hab. auf der Frucht von Atriplex halimoides, Melbourne (Neu-Holland).

Leptothyrium Polygonati: Sporulen zahlreich, gerundet, 4—5 = 1—1,5, fast gerade, grünlich-hyalin, einzellig.

Hab. auf den abgestorbenen Blättern von Convallaria Polygonatum im Walde „Monaca" bei Siena.

Fusarium Thevetiae: Konidien spindelförmig, sichelförmig-gekrümmt, 5—6-septiert, 30—40 = 4, farblos.

Hab. auf der getrockneten Frucht von Thevetia venenifera, West-Indien.

J. B. de Toni (Padua).

Lehmann, Hygienische Studien über Kupfer. Der Kupfergehalt von Pflanzen und Tieren in kupferreichen Gegenden. (Archiv f. Hygiene. Bd. XXVII. 1896. Heft 1. p. 1—17.)

Verf. untersuchte Pflanzen von einem alten, jetzt verlassenen, durch Tagbau betriebenes Kupferlager, das sich im Spessart im Kahlgrunde unweit des kleinen Dorfes Sommerkahl befindet. Von den meisten der Pflanzen wurden Wurzel, Stengel, Blätter, Rinde, Holz etc. soweit als möglich getrennt analysiert. Im großen und ganzen lassen sich dabei folgende Schlüsse ziehen:

1) Nur auf dem eigentlichen Gebiete des Kupferwerkes, resp. nur bei Pflanzen, die mitten im kupferreichen Gesteine erwachsen sind, erreicht der Kupfergehalt erhebliche Werte — d. h. Werte, die weit über den Zahlen liegen, wie sie auf gewöhnlichem Boden erhalten werden.

2) Die Zahlen thun dar, wie der Kupfergehalt mit der Entfernung vom Kupferbruche abnimmt.

3) Die Pflanzenspecies scheint für den Kupfergehalt von viel geringerer Bedeutung als der Kupfergehalt des Bodens; exakte Angaben hierüber lassen sich natürlich nur in künstlichen Kupferdüngversuchen machen.

4) Höchst unerwartete Ergebnisse lieferte die getrennte Analyse einzelner Pflanzenteile. Reichen auch die bisher vorliegenden Zahlen nicht aus, um alle interessanten Fragen zu beantworten, so darf man doch mit Sicherheit sagen: Weitaus am reichsten von den untersuchten oberirdischen Pflanzenteilen ist die Rindenschicht des Holzes.

5) Ueber die Frage, in welcher Form Kupfer in den Pflanzen vorkomme, stellte Lehmann nur wenige Versuche an. Eine Chlorophyllkupferverbindung liegt nicht vor nach der Ansicht des Verf.'s.

6) An den Kupferpflanzen war durchaus kein Zeichen einer besonderen Schädigung oder Förderung zu sehen, es läßt sich aus den Ergebnissen nur schließen, daß ein recht erheblicher Kupfergehalt den Pflanzenwuchs nicht stört.

Spätherbstmaterial, namentlich von Kirschbäumen und Wachholder, ergab noch einige weitere Folgerungen:

1) Die Rinde ist stets bei Holzpflanzen sehr viel reicher an Kupfer als das Holz. Bei Verbascum stimmt dieses auch für die Wurzel.

2) Der Kupfergehalt von Bast und Blättern steht stets zwischen dem von Rinde und Holz. Beim Wachholder und den zwei untersuchten Kirschbäumen übertrifft der Kupfergehalt des Bastes den der Blätter — bei der Weide ist es umgekehrt.

3) Das an der borkigen Kirschbaumrinde im Juli konstatierte Verhältnis, daß der Bast an Kupferreichtum die Rinde noch überträfe, fand sich nicht am herbstlichen Holze.

4) Im Spätherbste wurde der Kupfergehalt durchweg etwas niedriger gefunden als im Sommer, zum Teil sogar erheblich niedriger.

5) Auch an anderen Metallsalzen pflegt die Rinde stets auffallend reicher zu sein als das Holz. E. Roth (Halle a. S.).

Ráthay, E., Ueber das Auftreten von Gummi in der Rebe und über die „Gommose bacillaire". (Jahresbericht und Programm der K. K. önologischen und pomologischen Lehranstal in Klosterneuburg. Wien 1896.)

Vom Ackerbau-Ministerium mit einem eingehenden Berichte über die angeblich neue Krankheit, die Gommose bacillaire der Reben, beauftragt, hat der Verf. eingehende Untersuchungen über das Auftreten von Gummi im Rebholz angestellt, über die er hier berichtet. Das Endresultat der wichtigen Arbeit ist, daß es eine derartige Krankheit überhaupt nicht giebt.

Bekanntlich haben insbesondere Prillieux und Delacroix (vergl. das Referat in dieser Zeitschrift, Jahrgang 1895. p. 300f.) die Existenz der Gommose bacillaire als einer einheitlichen, von Bakterien verursachten Krankheit, für welche das Auftreten von Gummi im Holz charakteristisch sei, behauptet, und glauben die Krankheit durch Infektion mit Reinkulturen des betreffenden Bakteriums in Wunden auch künstlich hervorgebracht zu haben. Schon Mangin aber hält die Existenz der bacillären Gummosis für sehr fraglich.

Nach einer Besprechung der vorliegenden Litteratur über das Auftreten von Gummi in der Rebe läßt Ráthay zunächst eine Schilderung des anatomischen Baues von Wurzel und Stamm der Rebe folgen. Daran schließt sich ein Abschnitt über das Auftreten von Gummi in unverletzten Reben, worin gezeigt wird, daß bei allen untersuchten Arten ausnahmslos wenigstens in den zwei- und mehrjährigen Aesten, vielfach aber schon in den einjährigen mit Gummi erfüllte Gefäße ganz normal vorhanden sind, und daß solche auch in den Wurzeln nicht fehlen. Der dritte Abschnitt zeigt, daß die Rebe unzweifelhaft ein Kernholz bildet, und zwar erfolgt die Umbildung von Splint in Kernholz zwischen dem 20. und dem 30. Jahre. Charakteristisch für den Kern des Rebholzes ist insbesondere sein Reichtum an Ablagerungen von kohlensaurem Kalk. Das Auftreten des Gummis und die Bildung des Kernholzes sind aber, wie schon aus dem zweiten Abschnitt hervorgeht, ganz unabhängig von einander und der Zeit nach weit aus einander liegend. Der vierte Teil behandelt das Auftreten von Gummi in Wunden der Rebe. Unter den Schnittflächen ein- und zweijähriger Triebe stirbt der Sproß eine kurze Strecke weit ab und vertrocknet; die Gefäße sowohl im vertrockneten, wie im lebenden Teil der Triebe unter der Wunde werden regelmäßig durch Gummi- und Thyllenbildung verstopft und abgeschlossen. Aehnliche Veränderungen erleidet das Holz auch in älteren Stämmen unter Wunden, wie sie z. B. der in Niederösterreich vielfach übliche Kahlschnitt erzeugt. Bei diesem wird ein sehr niedriger Stamm gebildet, und alljährlich wird auf denselben zurückgeschnitten. Alle vorjährigen Triebe werden an ihrer Basis abgeschnitten, so daß nur die untersten oder das unterste Auge bleibt, und wieder austreibt. Das alte Holz wird infolgedessen am oberen Ende außerordentlich breit und wulstig aufgetrieben. Von jedem Querschnitt setzt sich in das Holz hinein ein braun gefärbter Strang fort, der nach innen dünner und dünner wird und endlich sich auskeilt, in wenigen oder einem gummi- oder thyllenerfüllten Gefäß endend.

Das braune Gewebe erweist sich als ähnlich dem normalen Kernholze und ist ebenfalls sehr reich an kohlensaurem Kalk.

Im letzten Abschnitt endlich vergleicht Verf. die von ihm untersuchten, vom Schnitt herrührenden Veränderungen des Holzkörpers notorisch gesunder Reben mit den von Prillieux als typisches Merkmal der Gommose bacillaire beschriebenen. Beide stimmen vollständig überein. Vielfache Versuche, Bakterien aus den inneren Partieen des braunen Holzes zu isolieren, schlugen sämtlich fehl. Was Prillieux als Zeichen der Gommose bacillaire auffaßt, ist in Wirklichkeit nichts als eine Wundholzbildung, die mit Bakterien nichts zu thun hat.

Damit dürfte die Gommose bacillaire ihre Rolle unter den Rebenkrankheiten definitiv ausgespielt haben. Behrens (Karlsruhe).

Mangin, L., Sur la gommose de la vigne. (Extr. d. l. Revue de Viticulture. 1895. 16 p.)

Verf. bestreitet das Vorkommen der von Prillieux und Delacroix als „gommose bacillaire" bezeichneten Krankheit des Weinstockes und zeigt zunächt, daß Gummi normal im Holze von Vitis und verschiedenen anderen Holzgewächsen gebildet wird. Dasselbe wird von den die Gefäße umhüllenden Zellen in diese hinein abgeschieden und zwar in Zweigen von jedem Alter und bei den verschiedensten Varietäten des Weinstockes. Diese Gummibildung findet ferner stets ohne Mitwirkung von Bakterien statt und ist viel zu geringfügig, um auf die betreffenden Pflanzen irgendwie schädlich wirken zu können.

Verf. fand ferner, daß die beim Beschneiden gesunder Weinstöcke entstandenen Schnittflächen und die von der angeblichen „gommose bacillaire" befallenen Zweige die gleichen Veränderungen zeigen: nämlich Bräunung des Holzes, Bildung von normalen Thyllen und von Gummi, Infektion durch verschiedene Saprophyten (Pilze, Hefen, Bakterien etc.). Die zuweilen ziemlich beträchtliche Gummibildung ist die Folge von Reizen, die durch die Verwundung auf die Gewebe ausgeübt werden. Bakterien sind bei dieser Gummibildung nicht beteiligt; sie ernähren sich dagegen zum Teil auf Kosten derselben. Der einzige Unterschied zwischen den Schnittflächen gesunder Weinstöcke und den Geweben der kranken besteht darin, daß in den letzteren das Gummi entweder verschwunden oder in bedeutend geringerer Menge vorhanden ist, und daß Bakterien in denselben ganz fehlen. Die Ausscheidung von Gummi an den Schnittflächen ist somit eine normale Erscheinung, die zu keinerlei Befürchtungen Veranlassung zu geben braucht.

Zum Schlusse empfiehlt Verf. noch die ganzen Pflanzen, namentlich aber die Schnittflächen und Wunden, zum Schutz gegen Infektionen mit 50-proz. Eisensulfatlösung zu bestreichen, womit gleichzeitig eine der Chlorose entgegenwirkende Eisenzufuhr stattfindet.

A. Zimmermann (Berlin).

Mangin, L., Sur la prétendue „Gommose bacillaire". (Extr. d. l. Revue de Viticulture. 7 p.)

Verf. zeigt, daß durch die inzwischen erschienene ausführliche

Arbeit von Prillieux und Delacroix im Gegensatz zu der ersten Mitteilung dieser Autoren verschiedene Angaben seiner früheren Arbeit bestätigt werden, und daß auch nach den neuerdings mitgeteilten Beobachtungen von Prillieux und Delacroix von einer durch Bakterien veranlaßten Gummibildung nicht die Rede sein kann.

A. Zimmermann (Berlin).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Knaak, Eine einfache Methode der Gegenfärbung bei Bakterienuntersuchungen. (Deutsche med. Wochenschrift. 1896. No. 34.)

Färbung des Trockenpräparates mit verdünnter wässeriger Methylenblaulösung; Abspülen mit Wasser; Trocknen; Nachfärbung mit wässeriger Eosinlösung 0,1 1—1 $^1/_2$ Minute. Die Gewebe werden hellrosa, die Kerne dunkler, die Bakterien blau. Die Methode soll bessere Resultate liefern als die von Arning in umgekehrter Reihenfolge für Gonokokken vorgeschriebene Eosin-Methylenblaufärbung.

Kübler (Berlin).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Wortmann, J., Ueber das Verkapseln und Verkorken der Weinflaschen. (Weinbau und Weinhandel. 1896. No. 23 und 24.)

Verf. liefert in der vorliegenden Abhandlung einen wichtigen Beitrag zur Kenntnis der Weinkrankheiten, indem er auf die Gefahren aufmerksam macht, welche ein weniger sorgfältiges Verfahren beim Verkorken und Verkapseln der Weinflaschen für die Qualität des Inhaltes haben kann. Es handelt sich in dieser Mitteilung nicht um jene Geschmacksveränderungen der Flaschenweine, welche als „Korkgeschmack" durch gewisse fehlerhafte Beschaffenheit des Korkes hervorgerufen werden, sondern um solche, welche durch die den Kork bewohnenden Mikroorganismen hervorgebracht werden.

In der feuchten Kellerluft finden die verschiedensten Mikroorganismen auf den Stopfen und in denselben die Bedingungen ihres Gedeihens, das noch begünstigt wird durch den eingeschlossenen feuchten Raum zwischen Stopfen und Kapsel. Die häufigsten Stopfenbewohner sind besonders Penicilliumarten, dann Dematiumfäden und Dematiumhefen, der Kellerschimmel (Racodium cellare), Cladosporium herbarum und andere Schimmelpilze,

ferner Weinhefen und endlich Kahmhefen, die schlimmsten Weinfeinde, welche außerordentlich widerstandsfähig sind und vom Verf. in alten Flaschenweinen regelmäßig und ganz besonders auch als Bewohner der Korke angetroffen wurden. Selbst in Weinen, die schon 30 Jahre lang in Flaschen gelagert hatten, fanden sich noch zahlreiche und lebenskräftige Kahmpilzkeime.

Aus der Uebereinstimmung der Stopfenflora mit den in Wein vorhandenen Keimen schließt Verf., daß die Besiedelung des ersteren, der ja vor dem Aufsetzen gebrüht wird, vom Flascheninhalte aus erfolgt, während die verkorkten und verkapselten Flaschen horizontal lagern. Die auf der Innenfläche der Stopfen haftenden Keime wachsen hier in Berührung mit dem hineindiffundierenden Sauerstoffe der Luft, vermehren sich und werden durch Spalten und Risse des Korkes oder durch die beim Schrumpfen sich bildenden Zwischenräume zwischen Stopfen und Glaswand weiter nach außen geführt, so daß sie schließlich auf die äußere Oberfläche des Stopfens gelangen. Der Wein und die Substanz des Korkes liefern ihnen das Material zu ihrem Gedeihen.

Im Laufe der Zeit häufen ihre Stoffwechselprodukte sich im Flascheninhalte an; aus den toten Individuen kommen unangenehme Geschmacksstoffe in den Wein, zunächst in so geringer Menge, daß sie unmerklich sind, aber mit der Zeit doch in Mengen, welche die Güte des Flascheninhaltes wesentlich beeinträchtigen und dem Weine Schimmelgeschmack verleihen, während ihn die Kahmpilze durch Verzehren des Alkohols matt, schlaff und wässerig machen.

Als einfaches und sicheres Gegenmittel gegen diese unmerklichen, deshalb vielfach übersehenen, aber um so unheimlicheren Wirkungen der Stopfenbewohner empfiehlt Verf. das Paraffinieren der Stopfen.

Behrens (Karlsruhe).

Richter, L., Ueber die Veränderungen, welche der Boden durch das Sterilisieren erleidet. (Mitteilungen aus der Kgl. pflanzenphysiolog. Versuchsstation Tharand. LVII. — Die landwirtschaftlichen Versuchsstationen. Bd. XLVII. 1896. p. 269—274.)

Unter Sterilisieren des Bodens versteht der Verf. ein Verfahren, nach dem man den Boden an mehreren hinter einander folgenden Tagen je 6 Stunden lang der Temperatur des siedenden Wassers aussetzt. Es handelt sich also nicht um ein absolutes Sterilisieren, da das bekanntlich nur bei höheren Temperaturen, also in Autoklaven, erreicht werden kann.

Aus der Zusammenstellung der Untersuchungsresultate ergeben sich drei interessante Folgen des „Sterilisierens“.

1) Das Aufsaugungsvermögens des Bodens für Wasser wird ungleichmäßig, wenn der Boden nicht vor der Sterilisation durchfeuchtet wurde. Bezüglich der Ursache dieses Verhaltens wird auf eine künftige Publikation verwiesen.

2) Während der Gesamtstickstoffgehalt des Bodens beim Sterilisieren unverändert blieb, wurde ein Teil der stickstoffhaltigen Stoffe durch das Sterilisieren in leichtlösliche Form übergeführt. Während der Gehalt an Stickstoff überhaupt im sterilisierten Boden

0,526, im sterilisierten ebenso viel (0,532 resp. 0,5325 Proz.) betrug, löste sich von dem Bodenstickstoff in verdünnter Salzsäure von 1,035 spez. Gewicht

im unsterilisierten Boden	0,439 g pro kg Boden,
in Boden, der ohne vorherige Anfeuchtung sterilisiert war	0,718 " " " "
in Boden, der vor der Sterilisation durchfeuchtet war	0,766 " " " "

Der Ammoniakgehalt im kg Erde nahm von 0,042 g auf 0,068 resp. 0,088 g zu.

3) Endlich wird die organische Substanz des Bodens in hohem Grade aufgeschlossen. Aus 1 kg Boden wurden durch kaltes Wasser ursprünglich 1,47 g organische Substanz in Lösung gebracht, nach dem Sterilisieren ohne vorherige Durchfeuchtung 3,63 g und nach dem Sterilisieren im durchfeuchteten Zustande 4,09 g.

Insbesondere durch die Löslichmachung des Stickstoffs, sowie durch die starke Aufschließung der organischen Substanz infolge des Sterilisierens erklärt sich das allgemein üppige Wachstum in sterilisiertem Boden. Wenn auch zunächst nur für partiell sterilisierte Erde nachgewiesen, dürften die gefundenen Bodenveränderungen doch auch, und zwar in noch viel höherem Grade beim vollständigen Sterilisieren, also insbesondere beim Erhitzen in Autoklaven unter Druck erfolgen, und es ist deshalb die vorliegende Untersuchung ganz allgemein für einschlägige Untersuchungen über Bodenorganismen und ihren Einfluß auf das Pflanzenwachstum von höchstem Werte.

Behrens (Karlsruhe).

Siebzehnte **Denkschrift**, betreffend die Bekämpfung der Reblauskrankheit 1894. Herausgeg. vom Reichskanzleramt. 106 p. mit 21 Anlagen, 3 Bl. Karten u. 1 Lageplan. Berlin 1896.

Die im Kalenderjahr 1893 von den deutschen Bundesregierungen aufgewendeten Kosten betrugen 641 090,65 M., was eine Gesamtausgabe von 5 178 728,31 M. darstellt. Der Stand der Reblauskrankheit im Deutschen Reiche war der folgende.

1. Preußen. In der Rheinprovinz war das Ergebnis der Revision der in den Vorjahren vernichteten Herde sehr günstig und konnten die 1892 aufgefundenen Herde für den Anbau von Feld- und Gartenfrüchten, mit Ausnahme von Weinreben, freigegeben werden. Bei den Untersuchungsarbeiten wurden auf dem rechtsrheinischen Gebiete 3 neue Herde mit 32 kranken und 1165 gesunden Reben auf 14,17 a, auf dem linksrheinischen 21 Herde mit 810 kranken und 5591 gesunden Reben auf 78,64 a ermittelt. Im Saargebiet fanden sich 5 Herde in der Gemarkung Großhemmersdorf (an der lothringischen Grenze) mit 2742 kranken und 23 189 gesunden Reben auf 1 ha 55,72 a. — In den Provinzen Hessen-Nassau und Sachsen hatte die Revision der älteren Herde ein günstiges Ergebnis. In Hessen-Nassau wurden 20 neue Herde mit 565 kranken und 25 438 gesunden Reben auf 2 ha 82,88 a aufgefunden, einer davon in der bisher nicht verseuchten Gemarkung Diedenbergen. In der Provinz Sachsen wurden 27 neue Herde auf 34,88 a in den alten Distrikten

(Freyburg, Zscheiplitz, Querfurt, Naumburg etc.) aufgefunden. Die Verbreitung der Reblaus erfolgte hauptsächlich in Richtung der herrschenden Winde.

2. Königreich Sachsen. An neuen Herden fanden sich in der Gemarkung Zitzschewig 1 mit 9 kranken Stöcken von 2,20 a, in der Gemarkung Naundorf 13 Herde auf 59,61 a, Cossebaude 18 Herde auf 33,50 a, Niederlößnitz 15 Herde auf 1 ha 70,13 a.

3. Königreich Württemberg. Die Revision der alten Herde war von günstigem Ergebnis. In den Gemarkungen Poppenweiler und Neckarweihingen waren die Grenzen des als verseucht anerkannten Areals zu eng gezogen, indem 7 neue Herde im Anschluß an die vernichteten Flächen aufgefunden wurden.

4. Großherzogtum Hessen. 1892 wurden die ersten Herde im Kreise Oppenheim entdeckt. Gegenwärtig dürfte Rheinhessen frei von der Reblaus sein.

5. Elsaß-Lothringen. Hier fanden sich neue Herde in den lange verseuchten Gemarkungen Vallières, St. Julien, Vantoux und Ancy des Landkreises Metz.

Ergebnisse der Versuche zur Rebenveredelung in Preußen. Die Arbeiten der Rebenveredelungsstationen bei Geisenheim-Eibingen, Engers, Trier und Zscheiplitz in der Provinz Sachsen wurden zum Teil in vergrößertem Umfange fortgeführt. Näheres ergeben darüber die Anlagen 18—21.

Beobachtungen und Versuche, betreffend die biologischen Verhältnisse der Reblaus. Die Arbeiten, über die des näheren berichtet wird, fanden in der Gemarkung Urbar bei St. Goar a. Rh. vom 15. Aug. bis 16. Sept. 1894 statt und bilden eine Fortsetzung der 1891—93 ausgeführten Beobachtungen über die Lebensverhältnisse der geflügelten Form der Reblaus und ihrer Nachkommen. Die Versuche, welche ermitteln sollten, ob aus den Eiern desselben Muttertieres nur solche Läuse entstehen, die der Mutterlaus gleichartig sind oder nicht, haben bisher zu einem Ergebnis nicht geführt, da der Zeitraum von 24 Tagen sich als zu kurz erwies. — Die Nymphen der Phylloxera vastatrix lassen öfter im Innern bereits die Bildung von Eiern erkennen, doch konnten die Nymphen vor ihrer Umwandlung in geflügelte Insekten auch durch ihre entwickelungshemmenden Einflüsse zur Eiablage nicht gebracht werden. Ebensowenig gelang es bisher, die Nachkommen der geflügelten Phylloxeren heranzuzüchten. Auch die übrigen Beobachtungen führten nur zu wenigen positiven Resultaten. Die Versuche, das Formol als Ersatzmittel für Schwefelkohlenstoff bei der Bekämpfung der Reblaus anzuwenden, zeigten, daß sich die Erwartungen, die man sich davon versprach, nicht erfüllen dürften, da bei dem verhältnismäßig hohen Preis des Mittels nur sehr verdünnte Lösungen in Frage kommen können.

Stand der Reblauskrankheit im Auslande.

1. Frankreich. Durch Ministerialerlasse von 1894 wurden für verseucht erklärt die Kantone von Puteaux (Seine), Melun-Nord, Brie-Comte-Robert (Seine-et-Marne), Vertus (Arrondissement Châlons),

Ville-en-Tardenois (Arrond. Reims), Saint-Palais (Arrond. Mauléon), Dax (Departement Landes), Saint-Nagaire (Dep. Loire-Inférieure), Le Mans (Dep. Sarthe), Commune de Nanterre (Dep. Seine), Kanton Lamarche (Dep. Vosges, Arrond. Neufchâteau). Die Steuernachlässe auf Grund des Gesetzes vom 1. Dez. 1887 in den von der Reblaus heimgesuchten Departements betrugen bis 1894 (in 8002 Gemeinden aus 59 Departements) auf 330284 ha Bodenfläche 13375000 Francs, im einzelnen:

1888	rund	1 600 000	Francs,
1889	„	2 270 000	„
1890	„	2 610 000	„
1891	„	2 520 000	„
1892	„	2 230 000	„
1893	„	2 145 000	„

Was den Stand in einzelnen Gegenden anlangt, so hat in der Champagne das Uebel bemerkbare Fortschritte gemacht, alte Herde nahmen an Umfang zu und neue wurden ermittelt zu Vincelles, Moussy, Ay, Nogent-l'Abesse, Chavost und Nancy. In der Gironde wurden 1893 8318 ha zu Grunde gerichtet. Ueberall, wo zur Wiederherstellung veredelte Reben angepflanzt oder das Ueberschwemmungsverfahren angewandt wurde, erreichten die Weinberge ihren früheren Verkaufswert wieder. In der Charente-Inférieure ist die Weinbaufläche von 30677 ha im Jahre 1893 auf 29655 ha im Jahre 1894 gesunken; von 18276 ha von mehr als fünfjährigen Reben bestandenen Flächen mußten 1593 ha Reben ausgerottet werden. Im Departement Hérault wurden 1894 nur 3923 ha dem Weinbau gewidmet, 156 ha weniger als 1893.

1886—1889 verlor der französische Weinbau noch 147000 ha, 1889—1892 dagegen nur 20992 ha. In Algier (mit noch 125000 ha Weinbergfläche) tritt die Reblaus im Departement Oran auf zu Oran, Sidi-bel-Abbès, Tlemcen, Trembles, Mascara und Saïda.

2. In Spanien macht die Reblaus im südlichen Teile des Landes Fortschritte. Im Gebiete von Jerez de la Frontera waren 1894 6 Bezirke mit 38 Herden auf 1850 a verseucht. Die Reblaus trat weiter auf in der Provinz Sevilla, auch in Cordoba, Almeria, Granada nimmt sie zu.

3. In Portugal waren bis 1892 197 Kreise verseucht. Die thatsächlich verseuchte Fläche wird, wie folgt, geschätzt:

Nördlicher Teil: 1. Region. In den Distrikten Vianna, Braga, Porto zusammen 4 ha. — 2. Region. In Villa Real und Braganca, zusammen 6934 ha. — 3. Region. In den Kreisen, die die Duro-Region bilden, zusammen 35400 ha. — 4. Region. In Aveiro, Leiria und Coimbra zusammen 5800 ha. — 5. Region. In Vizen und Guarda zusammen 8700 ha.

Südlicher Teil: 6. Region. In Castello Branco und Portalegre zusammen 656 ha. — 7. Region. In Santarem und Lissbo zusammen 56977 ha. — 8. Region. In Evora und Bega zusammen 356 ha. — 9. Region. Faro. Reblausherde nicht vorhanden. — 10. Region. Oestliche Azoren. In Ponta Delgada 4994 ha. — 12. Region. Westliche Azoren. In Angra und Horta zusammen 19 ha. Im ganzen

65 651 ha. In ganz Portugal demnach befallene Weinbaufläche 122 489 ha.

4. Schweiz. Im Kanton Zürich fand sich bei den im Juli 1893 begonnenen Untersuchungen die größte Zahl erkrankter Stöcke in der Nähe älterer Reblausherde von 1886, 1887, 1888. Zu Boppelsen wurden 4, zu Buchs 1, zu Dielsdorf 2, zu Höngg 4, zu Oberstraß 12, zu Oberweningen 4, zu Regensberg 6, zu Schöfflisdorf 1 neuer Herd aufgefunden. Im ganzen ergiebt sich gegen 1892 eine Zunahme von 76 Reblausherden mit 287 verseuchten Reben in 9 Gemeinden. Da es sich hier vorwiegend um zurückgebliebene Teile älterer Herde handelt, so ist eine Unterbrechung von 4—6 Jahren im Auftreten der Reblaus noch keine Gewähr für das gänzliche Erlöschen der Seuche. Die Ausgaben zur Bekämpfung der Reblauskrankheit im Kanton Zürich beliefen sich 1893 auf 45 054 Francs, 1886—1893 zusammen auf 489 075 Frcs.

Im Kanton Neuenburg wurden 1893 außerhalb der bisherigen Seuchengebiete liegende Herde nicht gefunden, wohl aber in jenen 217 neue Herde mit 2221 kranken Reben. Die Kosten betrugen 1893 41 480 Frcs. In beiden Kantonen wurden die Versuche über den Anbau veredelter Reben fortgesetzt.

Im Kanton Genf sind 2 Phasen in der Reblausbekämpfung seit 20 Jahren zu unterscheiden. 1874—1884 stand man einer künstlichen Einschleppung des Insektes zu Pregny gegenüber. Die Bekämpfungsarbeiten wurden damals allein in den Gemarkungen Grand-Saconnex, Petit-Sarconnex, Bellevue und Genthod ausgeführt. 1885 änderte sich die Lage. Es wurden entfernt von dem Herde zu Pregny 3 Herde zu Vernier, Bernex, Confignon gefunden, so daß ein neuer Angriff unmittelbar von der französischen Grenze bevorstand. Dieser kam auch wieder 1886. Von da an mußte der Kampf gleichzeitig gegen die Tochterinfektionen des alten Herdes von Pregny und gegen die viel bedeutendere Invasion von der französischen Grenze geführt werden, welches nun die stärkere blieb. 1893 verteilten sich die Reblausherde auf 28 Gemeinden mit 31 625 verseuchten Reben. Die Kosten beliefen sich auf 95 756 Frcs. von 1894 an auf 776 615 Frcs.

Im Kanton Waadt wurden sehr unliebsame Entdeckungen gemacht. Bei zahlreichen Weinstöcken, deren obere Wurzeln reblausfrei schienen, wurde das Insekt noch in 80 cm Tiefe unter dem Erdboden gefunden. Bei Arnex sur Orbe wurde am 30. August 1893 der bedeutendste Reblausherd des Kantons aufgefunden, bei welchem das Alter der unaufgeklärten Infektion auf 7—8 Jahre geschätzt wurde. Der Verlauf der Seuche im Waadtlande war von 1886—1893 der folgende:

1886	verseuchte	Reben	387,
1887	„	„	522,
1888	„	„	128,
1889	„	„	8,
1890	„	„	89,
1891	„	„	134,
1892	„	„	839,
1893	„	„	14 144,

Die in dieser Zeit zerstörte Weinbergsfläche betrug 4 ha 9215 qm. Die Kosten beliefen sich 1893 auf 87048 Frcs. Neuerdings wurden weitere Reblausherde aufgefunden.

5. In Italien war 1893 die Reblauskrankheit über 26 Provinzen verbreitet, 114338 ha Weinbaufläche waren zerstört und weitere rund 85788 ha verseucht. Am stärksten hatte Sizilien zu leiden; dann folgen Sardinien, Calabrien, die Insel Elba, Ligurien mit der Provinz Porto Maurizio, die Lombardei mit den Kreisen Lecco und Bergamo, Piemont mit dem Kreise Pallanza. Die Provinzen Turin, Genua, Alessandria, Ancona, Teramo, Chieti, Ascolo Piceno, Pesaro und Macerata, sowie die venetianischen Provinzen sind auch 1894 von dem Uebel verschont geblieben. In den Provinzen Perugia und Rom ist die Seuche fast ganz oder ganz unterdrückt.

6. In Oesterreich waren bis Ende 1893 von einer Gesamtweinbaufläche von 152790 ha verseucht oder seuchenverdächtig 49038 ha, die sich auf 27 politische Bezirke mit 323 Ortsgemeinden verteilen. 1894 wurde die Reblaus neu ermittelt in Niederösterreich in 21 Gemeinden, in Steiermark (1 Gemeinde), Krain (2 Gemeinden), Dalmatien (4 Gemeinden), im Küstenland in 12 Gemeinden, in Mähren in 5 Gemeinden, ferner nach Zeitungsnachrichten in Steiermark in 4 und in Krain in 11 weiteren Gemeinden. In Bosnien fehlt die Reblaus.

7. Rußland. 1893 wurden bei Foros in der Krim 5 Reblausherde mit 11 verseuchten Weinstöcken aufgefunden, 1895 erkrankten Reben am Südufer der Krim in der Nähe früherer Reblausherde. Die Reblausseuche hat sich über das ganze Gouvernement Bessarabien verbreitet, dagegen wurden im Cherson'schen Gouvernement neue Reblausherde nicht gefunden. Das kaukasische Reblauskomitee richtete 1893 seine Thätigkeit hauptsächlich auf die Erhaltung des Weinbaues in den Teilen des Gouvernements Kutais, in denen die Reblaus bereits eine gewisse Ausdehnung erlangt hatte. Reblausherde wurden entdeckt an der Grenze der Gouvernements Kutais und Tiflis, im Sugditski'schen Kreise, im Kreise Gori des Gouvernements Tiflis, im Kreise Schoropan. Im Thale des Flusses Tscheremeli wurden in 3 Gemarkungen Reblausherde gefunden.

8. Rumänien. 1893 waren von 187198 ha Weinbaufläche 34877 ha verseucht (244 Gemeinden in 16 Bezirken). Die günstigen Erfolge, die in neuerer Zeit mit den amerikanischen Reben und deren Anpflanzungen in den sandigen Donaugegenden erzielt wurden, gaben Veranlassung zu einer Vergrößerung der staatlichen Rebschulen.

Rumänien ist der Berner Konvention beigetreten. Das Land ist in 16 Weinbaugebiete eingeteilt, in deren jedem 1 Inspektor mit dem nötigen Personal thätig ist.

9. Serbien, das früher bedeutenden Weinüberschuß für die Ausfuhr hatte, ist durch fortgesetzte Ausbreitung der Reblaus derart geschädigt worden, daß es nunmehr einen Teil seines Weinbedarfs im Auslande decken und Weine aus Dalmatien, Italien und Macedonien einführen muß.

10. In der Türkei hat sich die Reblaus 1893 um Konstantinopel und im Vilajet Aidin weiter ausgebreitet, namentlich die Wein-

berge auf der asiatischen Küste dürften ganz dem Untergange verfallen sein. In Kizil Toprak und Fener Baghtsche sind von dem früheren Bestande von 400 ha nur noch 50 ha, in Erenköi und Kotzjatak von 500 ha noch 200 ha übrig geblieben; in Maltepe von 200 ha nur 50 ha, in Kartal und Jakadschyk von 300 ha noch 200 ha. In den Ortschaften Darydschu und Gebze mit 1500 ha Weinbaufläche wurden 1894 die ersten Rebläuse aufgefunden. Im Bosporus ist der frühere Bestand von 1000 ha auf 200 ha zurückgegangen. — In der Umgebung von Smyrna hat die Reblaus im Sommer 1894 mehr als je um sich gegriffen. Auf der Insel Samos mußten infolge des Widerstandes der Bevölkerung, der im August 1893 zu bedauerlichen Ausschreitungen führte, die Vernichtungsarbeiten eingestellt werden.

11. In Asien wurde die Reblaus 1890 an Rebstöcken in Kaschmir nachgewiesen (wahrscheinlich mit Reben aus Bordeaux eingeschleppt).

12. Afrika. Die Regierung zu Tunis hat 1894 die Einfuhr frischen Obstes, die wegen der Reblausgefahr verboten war, wieder gestattet.

13. Amerika. In Uruguay wurde die Reblaus 1893 aufgefunden bei Toledo und bald darauf zu Color und im Distrikte von Salto. Die bis jetzt befallenen Departements Montevideo, Canelones und Salto besitzen zusammen 1620 ha Weinberge. Die Gesamtweinbaufläche der Republik Uruguay beläuft sich auf 2883 ha.

14. Australien. 1894 wurden in der Kolonie Neu-Süd-Wales Reblausherde ermittelt in je einem Weinberge bei Liverpool und Granville im Cumberland-Distrikt, sowie in dem bereits früher verseuchten Distrikt von Seven Hills. Im Weindistrikt des Flusses Hunter gilt die Reblausseuche für erloschen. In der Kolonie Victoria wurden im Distrikt Bendigo 246 Acres verseucht gefunden. Die sämtlichen Weinstöcke wurden vernichtet. Ludwig (Greiz).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

DR. WILHELM WINDISCH.

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Campanini, F., La resistenza dei blastomiceti agli agenti fisico-chemici. (Policlinico 1896. 1. giugno.)

Herissey, H., Étude comparé de l'émulsine des amandes et de l'émulsine de l'Aspergillus niger. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1896. No. 22. p. 640—644.)

Sormani, G., I raggi Röntgen esercitano qualche influenza sui bacteri. (Giorn. d. r. soc. ital. d'igiene. 1896. No. 5/6. p. 149—152.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Effront, J., Etudes sur le levain lactique. (Annales de l'Institut Pasteur. Année X. 1896. No. 9. p. 524.)

Molkerei.

Sternberg, E. G., Bacteriology and the dairy. (Sidney Mail, reprinted in Dairy. 1896. No. 88. p. 97.)

Prefshefefabrikation.

Collette Fils, Aug., Nouveau procédé de Conservation des levures de boulangerie. (La distillerie française. Année 13. 1896. No. 642. p. 454.)

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Aikman, C. M., Milk, its nature and composition; a handbook on the chemistry and bacteriology of milk, butter, and cheese. 180 p. 21 fig. 1 pl.) London (Adam and Charles Black) 1895.

Bell, R., The preservation of milk and cream for general houshold purposes, the nursery and the sick room. (Dairy. Vol. VIII. 1896. No. 86. p. 31.)

Goff, G. G., Diseases caused by unwholesome milk. (Agriculture of Pennsylvania. 1896. p. 133—140.)

Gorini, La sterilizzazione del latte pei bambini confronto fra vari sistemi di chindere le bottiglie. (Rivista int. d'igiene. Anno VI. 1895. No. 11/12.)

Hamburger, H. J., Bacillus cellulaeformans. Zur Bakteriologie der Fleischvergiftungen. (Zeitschr. f. Fleisch- und Milchhygiene. 1896. Heft X. p. 186—189.)

Wasser.

Abba, F., Ancora sullo studio batteriologico dell' acqua. (Morgagni. 1896. No. 6. p. 414—416.)

Johnston, On grouping water bacteria. (Vortrag auf der Bakteriologen-Versammlung in New York am 21. und 22. Juni 1895. Nach den Protokollen im Journal of the American public health Association. Oktoberheft 1895.

Remlinger et Schneider, Présence du bacille d'Eberth dans l'eau, le sol et les matières fécales de sujets non atteints de fièvre typhoide. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1896. No. 26. p. 803—805.)

Wittlin J., Des bacteries susceptibles de se développer lorsqu'on emploie la méthode de Parietti pour l'analyse bacteriologique de l'eau. (Annales de microgr. 1896. No. 3. p. 89—110.)

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Bain, S. M., Some experiments with fungicides on peach foliage. (Tennessee Sta. Bul. Vol. VIII. 1896. No. 3. p. 35—40.)

Balfour, G., The potato rot and strawsonite. (Gard. Chron. Ser. 3,19. 1896. No. 486. p. 493.

Carruthers, W., Smut in barley. (Journ. Roy. Agl. Soc. England. Ser. 3,7. 1896. No. 25. p. 143—146. With 1 fig.)

Club root of turnips. (Gard. Chron. Ser. 3,19. 1896. No. 481. p. 332.)

Cobb, N. A., The hot-air treatment for stinking smut or bunt. (Agl. Gaz. N. S. Wales. Vol. VII. 1896. No. 2. p. 82—83.)

Cranefield, F., Eelworms. (Amer. Florist. Vol. II. 1896. No. 412. p. 1045—1046. With 1 fig.)

Dangerous enemies of shade trees. (Gard. and Forest. Vol. IX. 1896. No. 424. p. 141.)

Diseases of the vine in Talca and Quirihue, Chile. (Agl. Gaz. N. S. Wales. Vol. VII. 1896. No. 2. p. 96—99.)

Fautrey, F., Une nouvelle maladie des pommes de terre. (Rev. Mycol. T. XVIII. 1896. No. 69. p. 11—12. 2 fig.)

Forbes, A. C., Some diseases of conifers. (Gard. Chron. Ser. 3,19. 1896. No. 488. p. 553—554.)

Halsted B. D., The black knot of the wild cherry. (Forester. Vol. II. 1896. No. 3. p. 39—40.)

Halsted, B. D., Field Experiments with potatoes. (New Jersey Stat. Bul. 112. p. 20. 6 fig.)

Kobus, J. D., Contribution to the knowledge of the insects attacking the roots of sugar cane. V. (Med. Proef. Sta. East Java. No. 20. N. ser. p. 6. With 1 pl.)

Massee, G., Root diseases in New Zeeland caused by Rosellinia radiciperda. (Bul. Roy. Gardeno. 1896. p. 5. With 1 pl.)

Mayet, V., Margarodes vitium. (Agl. Journ. Cape Colony. Vol. IX. 1896. No. 7. p. 159—161.)

Richard, H. M., Notes on cultures of Exobasidia. (Bot. Gaz. Vol. XXI. 1896. No. 3. p. 101—108. With 1 pl.)

Smith, J. B., Peach insects. (Ent. News. Vol. VII. 1896. No. 4. p. 107—111.)

Sommerville, W., Infection experiments with club root of turnips (finger and toe disease). (Journ. Roy. Agl. Soc. England. Ser. 3. Vol. VI. 1895. No. 24. p. 749—759. With 7 fig.)

The larch disease. (Gard. Chron. Ser. 3, 19. 1896. No. 482. p. 362—368.)

Theobald, F. V., On some hop pests. (Ent. Monthly Mag. Ser. 2, 7. 1896. No. 75. p. 60—82.)

The shot-hole fungus of the apricot (Septoria cerasina). (Agl. Journ. Cape Colony. Vol. IX. 1896. No. 6. p. 135.

Weed, H. E., Insects injurious to corn. (Mississippi. Sta. Bul. 36. p. 147—159. With 14 figures.)

Went, F. A. F. C., On the appearence of the West Indian rind fungus in Java. (Med. Proef. Sta. West Java. 1896. No. 23. p. 6—12.)

— — The sour rot of cane. (Med. Proef. Sta. West Java. 1896. No. 23. p. 1—6. With 1 pl.)

Wheeler, H. J. and **Tucker, G. M.,** Upon the effect of barnyard manure and various compounds of sodium calcium, and nitrogen upon the development of the potato scab. (Rhode Island Sta. Bul. 33. p. 51—79. Figs. 6.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Adami, How is variability in bacteria to be regarded? Vortrag auf der Bakteriologen-Versammlung in New-York am 21. und 22. Juni 1895. (Nach den Protokollen im Journ. of the Amer. Public health Assoc. 1895. Oktoberheft.)

Cheesmann, What method shall be adopted, by which full benefit may be derived from morphological characteristics. (Loc. cit.)

Mackenzie, What new methods can be suggested for the separation of bacteria into groups and for the identification of species. (Loc. cit.)

Moore, On the nature of the flagella and their value in the systematic classification of bacteria. (Loc. cit.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Bailey, L. H., Notions about the spraying of trees, with remarks on the cankerworm. (New York Cornell Sta. Bul. 101. 1896. p. 483—502. With 7 figs.)

Bain, S. M., Fungicides. (Tennessee Sta. Bul. Vol. VIII. 1896. No. 1. p. 18—19.)

Chambliss, C. E. and **Bain, S. M.,** Spraying calendar. (Tennessee Sta. Bul. Vol. VIII. 1896. No. 1. p. 20—23.)

Chester, F. D., Experiments on the treatment of peach rot and apple scab. (Delaware Sta. Bul. 29. 1896. p. 24. With 1 fig. and 5 dgms.)

Degrully, L., La préparation des fungicides. (Prog. Agr. et Vit. T. XXV. 1896. No. 13. p. 339—342. Avec 1 fig.)

Duby, S. H., Spraying to prevent apple and pear scab. (Rural New Yorker. Vol. LV, 1896. No. 2411. p. 256.)

Hill, E. G., Fowlers solution for carnation rust. (Americ. Florist. Vol. XI. 1896. No. 408. p. 942—943.)

McCarthy, G., Spraying formulas and applications. (North Carolina Sta. Special. Bul. 33. 1896. p. 1. With 2 figs.)

Methods adopted in the Island of Elba to eradicate the Russian phylloxera. (Bul. Soc. Nac. Agr. — Agl. Gaz. N. S. Wales. Vol. VII. 1896. No. 2. p. 102.)

Pammel, L. H. and **Carver, G. W.**, Treatment of currants and cherries to prevent spot diseases. (Jowa Sta. Bul. 30. 1896. p. 289—301. With 7 planches.)

Pfuhl, E., Untersuchungen über die Verwendbarkeit des Formaldehydgases zur Desinfektion größerer Räume. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXII. 1896. Heft 2. p. 339—350.)

Reynolds, C. L.. A novel method of fumigating. (Amer. Florist. Vol. XI. 1896. No. 412. p. 1049.)

Rolfs, P. H., Some unexpected results of spraying peaches. (Proc. Ann. Meeting Soc. Promotion Agl. Sci. 1895. p. 40—41.)

Stewart, F. C., Fowlers solution for carnation rust. (Americ. Florist. Vol. XI. 1896. No. 408. p. 942.)

The sulphate of copper in vine diseases. (Agl. Gaz. N. S. Wales. Vol. VII. 1896. No. 2. p. 100—101.)

Thomson, R. T., Relative efficiency of various preservatives in milk. (The Analyst. Vol. XXXI. 1896. March. p. 65.)

Vaillard, L. et **Lemoine, G.**, Sur la désinfection par les vapeurs de formaldéhyde. (Annal. de l'Instit. Pasteur. Année X. 1896. No. 9. p. 481.)

Watts, R. L., Spraying apparatus. (Tennessee Sta. Bul. Vol. VIII. No. 1. p. 3—13. With 15 figs.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

1896. **Centralblatt** Bd. II. No 19.

für Bakteriologie und Parasitenkunde.

II. Abteilung.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit

Prof. Dr. Adametz in Krakau, Prof. Dr M. W. Beyerinck in Delft, Prof. Dr. A. B. Frank in Berlin, Dr. v. Freudenreich in Bern, Prof. Dr. Emil Chr. Hansen in Kopenhagen, Dr. Lindner in Berlin, Prof. Dr. Müller-Thurgau in Wädensweil, Dr. Erwin F. Smith in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. Stutzer in Bonn, Privatdocent Dr. Wehmer in Hannover, Dr. Weigmann in Kiel, Dr. Wilfarth in Bernburg und Dr. Winogradsky in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

II. Band. Jena, den 9. November 1896. No. 20.

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 16 Mark.

Original-Mittheilungen.

A contribution on the gases produced by certain bacteria.

By

L. H. Pammel and Emma Pammel

in

Ames, Jowa (Jowa Agric. College).

With 1 plate.

Introductory.

The manifold interests attached to micro-organisms, because of their relations to certain diseases in man and lower animals, and the part they play in many economic problems, has been the cause of an unusual amount of activity among physicians and biologists, and yet we are only on the threshold of this great and growing science.

Many of the questions are in a chaotic state. The physician in studying germs, constantly keeps in mind the part micro-organisms

play in disease, relegating a consideration of systematic questions to botanists, in many cases the latter only consider form, but they should consider physiological questions which are of greater importance in classification than morphology. There are many side questions bearing on the physiological changes that take place during the growth of these organisms that should be considered. The chemical side of the question is especially important, indeed, chemico-bacteriology is of great value, and while this subject has received much attention from some, there is abundant room for many contributions. The purpose of this paper is to make a small contribution along these lines. Our attention has been given more especially to the gases produced by a few species found here et Ames (Jowa).

We are indebted especially to Brieger[1]), Koch[2]), Hankin[3]), Weber[4]), Schweinitz[5]), Theobald Smith[6]), Vaughn and Novy[7]), Bitter[8]) etc. For their valuable contributions along the lines of chemical products of bacteria.

The chemical products produced by bacteria are various. The study of these is, however quite limited, and future investigation will no doubt reveal many different chemical products.

As to the acids produced, some of the most common are acetic, lactic, butyric, succinic, malic, and some volatile fatty acids. Of the alkaline products, ammonia, trimethylamin, leucine, tyrosine may be mentioned. Of the gases, carbondioxid (CO_2), and hydrogen (H), and a few investigators claim the presence of methane (CH_4).

Aside from these three distinct classes of substances, there are many more, e. g. alcohol, ammonium sulphid, hydrogen sulphid, the transformation of some sugars into gum and mannite, and the production by many of the germs of toxalbumins, enzymes and ptomaïnes. Indol, and skatol are also formed under certain circumstances. Peculiar odors as the result of vital activity are also formed, these in many cases are very penetrating. In some cases these odors are evanescent but in some as in Bacillus aromaticus[9]), this odor remains in the culture medium for months even a year.

Concerning the products of pure cultures of saprophytic bacteria,

1) Ueber Ptomaïne, Berlin 1885—1886 etc. Brieger und Fraenkel, Untersuchungen über Bakteriengifte. (Berliner klin. Wochenschr. 1890. No. 11 und 12.)
L. Brieger, Kitasato und Wassermann, Ueber Immunität und Giftfestigung. (Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. XII. p. 137.)

2) Weitere Mitteilungen über das Tuberkulin. (Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 43.)

3) Immunity produced by an albumose, isolated from anthrax cultures. (British Medical Journal. 1889. p. 810.)

4) Rotzlymphe, Malleïn. (Centralblatt für Bakt. und Parasitenkunde. Bd. XI. 1892. p. 20.)

5) Bulletin No. 7, U. S. Dep. of Agriculture, Bureau of Animal Industry. p. 159.

6) The fermentation tube with reference to anaërobiosis and gas production among bacteria. (The Wilder Quarter Century Book. 1893. p. 187.)

7) Ptomaïnes and leucomaïnes or the putrefactive and physiological alkaloids. Philadelphia (Lea Brothers & Co.).

8) Ueber die bakterienfeindlichen Stoffe tierischer Stoffe. (Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. XII. p. 328.)

9) L. H. Pammel, An aromatic bacillus of cheese. (Bull. No. 21. Ia. Agl. Exp. Sta.)

the investigations are not so numerous as with pathogenic forms. It is natural that chemists as well as physicians should give more attention to pathogenic forms as the question vitally affects the health of a community. In this paper only few references can be given. Theobald Smith[1]), Conn[2]), Botkin[3]), Gessard[4]), Liesenberg and Zopf[5]), Nencki[6]), Loew[7]), Kedrowski[8]), Moore[9]).

Numerous bacteriologists have called attention to the production of gas by bacteria. The formation of gas in certain pathogenic forms has been known for some time as in Bacillus oedematis maligni, and the bacillus of symptomatic anthrax "Black quarter" or "Rauschbrandbacillus" of the Germans. Gas is also formed by the Bacillus lactis aerogenes of Escherich obtained from the contents of the small intestine, discovered by Escherich in 1886; the colon bacillus of Escherich; the Bacillus acidiformans of Sternberg, obtained from a fragment of a yellow fever liver; the hog cholera bacillus of Salmon and Smith, the Bacillus typhi murinum, Bacillus aromaticus, Bacillus butyricus of Botkin, Proteus vulgaris of Hauser, Bacillus gasoformans of Eisenberg, Bacillus cloacae and many others.

A study of the gases producet by bacteria is of great importance in the diagnosis of certain species. Those who are familiar with the bacillus of typhoid fever and have made studies of contaminated water, know that investigators have encountered unusual difficulties in separating the Bacillus typhosus from Bacillus coli communis.

Dr. Theobald Smith[10]) in 1889 noticed the total lack of gas produced by the typhoid bacillus and in 1890 recommended the use of the fermentation tube. This has come into general use for bacteriological work and is an indispensable adjunct in a bacteriological laboratory. Bacteriologists have laid too much stress on the growth of germs on certain solid media. The peptonizing of gelatin, as a result generally of the production of metabolism, is important,

1) The fermentation tube with special reference to anaërobiosis and gas production among bacteria. (Reprint from the Wilder Quarter Century Book. Ithaca N. Y. 1893.)

2) Centralblatt für Bakt. und Parasitenkunde. Bd. IX. p. 653. The fermentations of milk. (Exp. Sta. Bull. No. 9. Office of Exp. Sta. U. S. Dept. of Agr. 1892.)

3) Ueber einen Bacillus butyricus. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. XI. p. 421.)

4) Sur la fonction fluorescigène des microbes. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. VI. p. 801.)

5) Ueber den sog. Froschlaichpilz (Leuconostoc) der europäischen Rübenzucker- und der javanischen Rohrzucker-Fabriken. (Beiträge z. Physiologie u. Morphologie niederer Organismen, herausg. von W. Zopf. 1892. Heft 1. Nachtrag hierzu, Heft 2. Leipzig 1892. Koch's Jahresb. Gärungsorganismen. 1892. p. 89.)

6) Ueber Mischkulturen. (Centralblatt f. Bakt. u. Parasitenkunde. Bd. XI. p. 225.)

7) Ein Beitrag zur Kenntnis der chemischen Fähigkeiten der Bakterien. (Centralblatt f. Bakt. u. Parasitenkunde. Bd. XII. p. 361.)

8) Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. XVI. p. 445.

9) An inquiry into the alleged relation existing between the Burill disease of corn and the so called corn-stalk disease. (Agrl. Science. Vol. VIII. p. 368.)

10) Centralblatt f. Bakt. u. Parasitenkunde. Bd. VII. p. 502. On the history of its use, see Theobald Smith. "The fermentation tube". (l. c. p. 225.)

the production of pigments and the character of growth in media when acid or alkaline should be carefully noted. In the colon bacillus and typhoid bacillus, these characters are similar. Dr. Theobald Smith[1]) says, "a consideration of the results obtained with the fermentation tube develops a number of interesting phases of bacterial life".

Perhaps the most important fact to be gathered is the fundamental character of gas production, not only in the distinguishing of species but groups of species. The phenomenon of fermentation as expressed by gas production, may in fact be called a group reaction."

We have a like fact to record of two species considered in this paper. The Bacillus mesentericus vulgatus and B. gasoformans. They are scarcely distinguishable by ordinary culture methods, but a study of the production of gas differentiates them. It is possible that Tils was mistaken with reference to the occurence of Bacillus mesentericus-vulgatus in water, and yet it is easy to account for it in water since it is a soil organism.

We should not fail to note that the character of the medium in which bacteria are grown is an important matter as Petruschky[2]) and others have shown.

He found variable amounts of acids produced, but these discrepancies he thought might be due to difference in the medium, it being impossible to make two media the same, nevertheless it was possible to place them in acid and alkaline groups.

Hoppe Seyler, who has made a study of gases in dilatation of the stomach arrives at the following conclusions:

a) In thirtheen out of twenty-two cases, there was found carbon dioxid and hydrogen.
b) The formation of hydrogen depends on a butyric ferment.
c) The formation of hydrogen even occurs when the fluid contents of the stomach contains two per cent of sodium chlorid ($NaCl$).
d) By the removal of sodium chlorid, there is usually a larger per cent of carbon dioxide (CO_2).
e) The yeast ferment only produces carbon dioxid.
f) In many cases the stomach only contains the gases that have been taken in with food.

Brieger's study of the Pneumococcus of Friedlaender shows that when the organism is grown in a medium containing grape or cane sugar, acetic some formic and succinic acids and ethyl alcohol were produced. When this organism was grown in calcium lactate and creatine the same products were formed.

In Bacillus methobutylicus the amount of alcohol and acetic acid stand to each other in virtually the same proportion as does that produced by Friedlaender's Pneumococcus, yet the absolute amounts produced are much less than in that of Bacillus methobutylicus.

---

1) l. c. p. 217.

2) Bakteriochemische Untersuchungen. (Centralblatt f. Bakt. u. Parasitenkunde. Bd. VII. 1890. p. 49.)

Some difference is also noticed on the day when fermentation begins, but Frankland, Stanley ane Frew remark, "Although" there is some difference in the several series of experiments as to the precise period which elapses between the time of inoculation and the commencement of fermentation, the balance of evidence points to the glucose being the least, and to the mannitol and the cane sugar being the most fermentable. Dr. Theobald Smith observes that glucose is most readily fermented in pathogenic forms.

In the glucose fermentation of Pneumococcus the proportion of hydrogen to carbon dioxid by volume shows that the gases are given off in approximately the same number of moleucles of each, or more accurately two molecules of hydrogen to thirteen molecules of carbon dioxid in the case of glucose, and ten molecules of hydrogen to twelve molecules of carbon dioxid in that of mannitol. The quantitative relation of these gases varies according to stage of fermentation.

This larger proportional evolution of hydrogen in the case of mannitol is what might have been anticipated from a consideration of a larger per cent of hydrogen in mannitol.

Gärtner also made some interesting investigations on a gas producing bacillus. He inoculated the organism into different media containing varying quantities of sugars and peptone. Inoculations were made in media having different acid or alkaline reactions. The results obtained from solutions which had an acid reaction were quite different from those obtained from solutions which were neutral.

He states that three a per cent glucose medium gives a relatively larger per cent of gas than a one and half per cent solution. Also an acid reaction hinders the production of gas and the total amount of gas is not so much when the reaction is neutral.

Botkin[1]) states that the large amount of gas produced in milk by a Bacillus butyricus is due to the large amount of free butyric acid. This anaerobic bacillus produced so much gas that half of the tubes used in the experiment were broken. He obtained in his first analysis 36,79 per cent of CO_2 and 63,21 per cent of H. In his second analysis, 47,27 per cent of CO_2 and 52,72 per cent of H. These two gases only occurred. The older culture containing more CO_2 and less H.

Perdrix[2]) has likewise studied an anaerobic butyric acid bacillus which produced a large amount of gas.

In this connection, reference should also be made to the extended paper of Theobald Smith on the use of the fermentation tube.

This thorough paper considers the gases of a number of different species and goes more exhaustively into the subject than any other paper we are fimiliar with.

Dr. Smith in his analysis uses the fermentation tube. The medium and fermentation tubes are completely sterilized after which

---

1) M. Gruber (Centralblatt f. Bakt. u. Parasitenkunde. Bd. I. 1887) describes two species producing butyric acid but the results of his chemical studies, have not so far as we know been published.

2) Ann. de l'Inst. Pasteur. p. 287.

the media is inoculated with the species. The bouillon should be free from muscle glucose when saccharose and lactose are used. The gas is afterwards determined by using potassium hydroxid as an absorbing material for the carbon dioxid. The remainder of the gas was found to be an explosive gas and he assumes it to be H.

The species studied were, Bacillus coli communis, hog cholera bacillus, Bac. lactis aërogenes, Bac. of Friedlaender, Bac. oedematis maligni, Proteus vulgaris, Bac. cloacae and species of Saccharomyces.

In Bac. coli communis, the gas is made up of one volume of carbon dioxid, and four volumes of explosive gas (Hydrogen).

The hog-cholera bacillus possesses the power of fermenting glucose in precisely the same manner as B. coli communis, but it is incapable of producing gas in bouillon containing cane and milk sugar. The culture fluid of both coli and hog-cholera become distinctly acid.

One variety of Bac. lactis aërogenes has a physiological property different from Bac. coli. It produces gas in lactose and glucose sugar, but cane sugar is not affected. In a recent paper Dr. Smith[1]) writes concerning an aberrant form as follows.

"A slightly aberrant form (No. 30) was found in spring water and perhaps derived from the manure of animals frequenting it. The potato-growth is identical with that of the preceding, but the coagulation of milk proceeds more slowly, not being completed for five or six days. The gas-reactions are likewise different, approaching those of the colon group:

In dextrose-bouillon, total gas 1/3; H/CO_2 3/1; reaction acid.

In lactose-bouillon, total gas 11/12; H/CO_2 3/2; reaction acid.

In saccharose-bouillon, total gas 2/3; H/CO_2 2/1; reaction acid.

From these figures it will be seen that the total gas production is less and the relative amount of hydrogen greater than in the preceding species. Here, again, is illustrated the fact frequently noted by the writer that where gas is evolved the intensity of the acid reaction is proportional to the relative amount of hydrogen set fre."

In Bac. oedematis maligni, there is a close relationship of this species with the coli group, except that it does not produce gas in cane sugar.

In Proteus vulgaris the power of gas production is peculiar in that a smaller quantity of gas is formed than in culture of Bac. coli communis. It, likewise is unable to produce gas in lactose.

The production of gas by Bac. cloacae is very rapid in glucose and saccharose bouillon and slow in lactose bouillon. It differs from the previous germs in producing a much larger proportion of carbon dioxid, the fraction, H. to CO_2 varying from 1/2 to 1/3.

Lastly, he took up Saccharomyces cerevisiae, this differs from Bac. cloacae in the invariable obsence of hydrogen, the Saccharomyces only producing carbon dioxid. It produces gas in glucose and in cane sugar but fails to produce gas in lactose.

---

1) See reference No. 24.

More recently Dr. Smith[1]) has published futher results on production of gas in several species, showing, especially, the careful work necessary to distinguish some of the closely related forms as the following extract shows:

"In order to establish a type-species of B. coli communis I would suggest that those forms be regarded as true to this species which grow on gelatine in the form of delicate bluish or more opaque withish expansions with irregular margin, which are actively motile when examined in the hanging drop from young surface-colonies taken from gelatine plates, which coagulate milk with in a few days; grow upon potato either as a rich-pale or brownish-yellow deposit, or merely as a glistening, barely recognizable layer, and which give a distinct indol-reaction. Their behavior in the fermentation-tube must conform to the following scheme:

Variety α. One per cent dextrose-bouillon (at 37° C):

Total gas, approximately 1/2; H/CO_2 approximately 2/1; reaction strongly acid.

One per cent. lactose-bouillon:

As in dextrose-bouillon (with slight variation).

One percent saccharose-bouillon:

Gas-production slower than in the preceding, lasting from seven to fourteen days. Total gas finally about 2/3; H/CO_2 nearly 3/2. The final reaction in the bulb may be slightly acid or alkaline, according to the rate of gas-production.

Variety β. The same in all respects excepting as to its behavior in saccharose-bouillon. Neither gas or acids are formed in it."

Certain intermediate forms occur. "Before referring briefly to the salient features of these intermediate forms, it is desirable to point out once more briefly the fundamental difference between Bac. coli on the one hand and the large hog-cholera group (including Bac. enteriditis and Bac. typhi muritum) and the typhoid bacillus on the other. The fermentation-reaction of the hog-cholera group is as follows:

One per cent dextrose-bouillon: total gas 1/2; H/CO_2 2/1; strongly acid reaction; 1 per cent lactose-bouillon: no gas or acids: 1 per cent saccharose-bouillon: no gas or acids.

The hog-cholera bacillus, while identical with B. coli in its behavior in dextrose boullon, differs wholly from the latter in having no effect on lactose (and milk) and saccharose.

The typhoid bacillus differs from both.

One per cent dextrose-bouillon: no gas, markedly acid reaction; 1 per cent lactose-bouillon; no gas, no acid reaction; 1 per cent saccharose boullon; no gas, no acid reaction.

The use of lactose bouillon alone is not sufficient as a distinguishing character between typhoid and pseudo-typhoid forms, for the whole hoch-cholera group and many other forms fail to act upon the lactose."

---

1) Notes on Bac. coli communis and related forms together with some suggestions concerning the bacteriological examinations of drinking waters. (Reprint from the American Journal of the Medical sciences. Sept. 1895. p. 20.)

The preparation of media and methods used.

In studying the gases produced by the organisms here considered Hempel's well known method was used. It will not be necessary to describe the method as thes can be found in chemical works.

The fluid in all cases was peptone bouillon containing either glucose, lactose or cane sugar. The bouillon was prepared by either using 500 grammes of finely chopped lean beef, or 5 grammes of Liebig's extract. To this was added 1000 ccm of water. After this was boiled and neutralized it was filtered and to the filtrate was added 5 grammes of salt, 20 grammes of sugar, and 10 grammes of dried peptone. The medium was now put in the flask and separatory funnel, and sterilized by steaming on three succesive days in Koch's steam sterilizer.

The inoculation in all cases were made from fresh cultures, either agar-agar,. gelatin or potato. The medium in all cases was neutral. The species were tested in the bacteriological laboratory with the Smith fermentation tube to see whether the muscle glucose would interfere and when found not to do so were studied with reference to gas-production in various sugars, and other biological characters noted and finally their morphology was determined. The chemical part of the work was done in the chemical laboratory of the Iowa Agricultural College under the immediate direction of Professor A. A. Bennett to whom should be given the credit for many suggestions as well as help. We are also indebted to Dr. Theobald Smith for some valuable suggestions as well as Dr. E. F. Smith [1]).

The tabulated results of a few of the gas-producing organisms are brought together in one table on p. 641. The morphology and biology of each species is also given.

1) Bacillus aromaticus L. H. Pammel [2]).

Morphology.

A small bacillus with rounded ends 0,9 to 1,2 μ long; 0,3 to 0,45 μ in width, occur either singly or in chains of two or three.

It was first described as a non-motile bacillus, but in fresh cultures, motion has been observed. Spores not found, but in fluid media it retains its vitality for months. Destroyed at 70 degrees C when heated for ten minutes. Bichloride of mercury 1—5000, ten minutes destroys its vitality.

Biology.

Agar. Grows best at the temperature of the room, making a vigorous rapid growth along the track of the needle on the surface and down in the medium, often forming lens shaped gas bubbles.

The growth radiates out from the center, soon covering the entire surface. Color, at first whitish; but in the course of two or three

1) The senior writer of this paper does not lay claim to any of the chemical work, but it seemed better to combine the results of the work in one paper. The chemical part of the paper is, therefore to be credited to my sister. L. H. Pammel.

2) Bull. No. 21. Ia. Agl. Exp. Sta. p. 792.

weeks it is yellowish white with a slight tinge of brown. In new cultures, pleasant butyl odor; in older cultures, it becomes stronger, and distinctly cheesy.

Gelatin. Grows rapidly in gelatin at the temperature of the room. The liquefied area, is funnel shaped, hollow on the surface. Finally the whole medium is linquefied; odor, same as on agar.

Bouillon. A rapid growth at room temperature. The whole medium becomes cloudy. In twenty four hours, falls to the bottom as a yellowish white sediment, which is but slightly tenacious. Strong butyl odor; and in old cultures, decidedly cheesy, resembling Limburger. With litmus paper, acid reaction. Facultative anaerobe.

In Bouillon containing potassium nitrate, growth only occurs on the surface. Finally falls to the bottom as a white flocculent precipitate. Odor same as in ordinary bouillon.

Milk. Grows readily in milk at the ordinary room temperature. No perceptible changes in milk in twenty four hours, except the characteristic odors found in other media. In forty eight hours, the odor becomes stronger, the milk is curdled, consisting of fine rounded masses. The curd is then dissolved separating out into a liquid portion on top and curd at the bottom in the course of several months the whole is dissolved. Retains its characteristic odor for months. Curdled milk has a cheesy taste.

Blood Serum. Grows readily forming a dirty whitish growth along the track of the needle. Soon spreads over the surface, liquefying the medium. The odor is always pleasant, decidedly fruity, with a combination of butyl odor.

Potato. Grows rapidly forming a yellowish white growth on surface, following track of needle. Somewhat invisible at first, unless potato is moist. With considerable moisture in the potato, round whitish yellow colonies are found. Odor of fermentating potatoes, not so strongly butyric in its character as in other media. It has the power of dissolving starch.

Need of Oxygen. A facultative anaerobe, but with pyrogallic acid method of Buchner, only a small amount of growth takes place. And no color is produced. Potassium nitrate in boullon renders the organism aerobic.

Fermentation tube.

Lactose. Growth only occurs in bulb near surface, tube clear. Growth settles in neck as a whitish yellow sediment. A pleasant nut like, cheesy odor, formed.

Glucose. Growth occurs in bulb and tube, becoming cloudy Gas not formed till 48 to 73 hours, when considerable amounts were formed. Pleasant aromatic odor.

Saccharose. In this medium, there is a rapid production of gas in twenty four hours. In the course of four or five days it ceases to develop.

The amount and kinds of gases produced as determined by chemical analysis, is as follows:

No.	Temp.	Date	Kind of sugar	Gas present after days					No. of ccm taken	CO_2 %	H %
				1	2	3	4	5			
1	28 ° C	July 25	Glucose	0	87,3	175	237		38,4	26,04	73,9
	18 "	Oct. 1	"	0				45,4	15,7	26,68	73,3
2	28 "	Aug. 2	Saccharose	0	39,5		93,8	122,9	18,7	33,5	76,4
	24 "	" 17	"	0					32,2	21,8	78,0
3		" 10	Lactose	0	0	0	0	0	0	0	0
		" 15	"	0	0	0	0	0	0	0	0

Remarks.

In No. I, the number of ccm of carbon dioxid in 680 ccm of media is 503,2 ccm. In No. 2, the number of ccm of carbon dioxid in 695 ccm of media is 514,4 ccm. In all cases the medium was neutral when it was inoculated, but always acid when bacteria ceased their growth. In No. I no alcohol was found, but there occurred lactic acid. In No. 2 alcohol was found. No. 3 was tested neither for alcohol or acids.

2) Bacillus gasoformans Eisenberg[1]).

The characters given by Eisenberg are so meager that the species here recorded may be doubt ful; so that the determination is provisional.

Morphology.

Large rods with rounded ends. 3,75 to 4 μ long by 1,12 to 1,4 μ broad, variable in length, in chains of two to four or five, twisted. In hanging drop cultures, slow motion can be made out, cells without granular contents, forms very resistant spores, 100° C, 10 minutes not destroyed. It frequently occurs in media not sufficiently sterilized. Comes from tap water. Bichloride of mercury: 1—1000, 1 minute not destroyed; 1—2000, 2 minutes not destroyed; 1—2000, 3 minutes not destroyed. It is therefore a very resistant organism.

Biology.

Agar. Rapid, white wrinkled growth on surface, at temperature of the room, following track of the needle; rarely spreads over the entire surface.

Gelatin. Rapid white growth at temperature of the room. Follows track of needle. Liquefying the gelatin, forming a funnel shaped area in which a flocculent precipitate occurs. Finally the whole medium is liquefied. Grows slower in gelatin than Bacillus mesentericus vulgatus. Down in medium, lens shaped colonies may be seen.

Bouillon. Grows rapidly at temperature of the room, forming a white scum which may or may not be wrinkled. Settles at the bottom as a white sediment, odor somewhat disagreeable.

Blood Serum. Growth at temperature of the room. Follows

1) Bakteriologische Diagnostik. 1888. p. 11. Sternberg, Manual of Bacteriology. 1892. p. 676.

track of needle with slight irregularity on margins, finally spreading over the whole surface, dirty white in appearance.

Potato. Growth at the ordinary temperature of the room following the track of the needle. Slightly granular with large wrinkles. Soon covers the potato, corrodes starch.

Milk. Rapid growth in milk, coagulates, then is wholly dissolved. Reaction alkaline.

Fermentation tube.

Lactose. Growth on surface in bulb. Settles in neck as a white sediment no growth in tube. Gas not formed.

Glucose. Growth rapid on surface, settles as a sediment in neck. It requires 48 to 72 hours and occasionally, longer time for the tube to become cloudy. After this time an abundance of gas is formed.

Saccharose. Growth on surface settles in neck, white, in 24 hours an abundance of gas.

The amount and kinds of gases produced as determined by chemical analysis is as follows:

No.	Temp.	Date	Kind of sugar	Gas present after days					No. of ccm taken	CO_2 %	H %
				1	2	3	4	5			
1	28° C	Sept. 6	Glucose	76,6	134,6				24,3	27,8	72,1
		July 26	,,						72	11,5	82,4
2		Aug. 29	Saccharose	0	136,8	151,8		0		42,3	57,6
		July 8	,,						85	44,7	55,3
3		Aug. 6	Lactose	0	0	0	0	0	0	0	0
		Sept. 15	,,	0	0	0	0	0	0	0	0

Remarks.

In the medium which was inoculated July 26, the gas was not pure, air got into the apparatus. In all cases the media were neutral when inoculated but at expiration of the experiment it was acid. In No. 1 acetic and lactic acids was found. Also a trace of alcohol.

The number of ccm of carbon dioxid held in 683 ccm of media equals 505,4 ccm. In No. (2), the acid found was lactic. Alcohol was also found. The number of ccm of carbon dioxid held in 630 ccm of media equals 466,2.

3) Bacillus mesentericus-vulgatus Flügge [1]).

Source. Obtained from insufficiently sterilized potato. Frequent. It is not the only resistant species found on potato; and while it

1) Die Mikroorganismen. 1886. p. 322. Eisenberg, Diagnostik. 1888. p. 19. De Toni and Trevisan in Saccardo Sylloge Fungorum. Vol. VIII. p. 985. This is given as Bacillus vulgatus, Trevisan in Gen. e Spec. delle Batteriaceae. 1889. He changed the name presumably because it was compound. The old name, although compound, should stand. Sternberg, Manual of Bacteriology. 1892. p. 673. Scholl, Die Milch. 1891. p. 40 und 49. Loeffler, Berliner klin. Wochenschr. 1887. No. 34. Kramer, Die Bakteriologie in ihren Beziehungen zur Landw. p. 11. 43. Rodet, De la variabilité dans les microbes au point de vue morphologique et physiologique. Paris. 1894. p. 224, see p. 68. Cornil and Babes, Les bactéries. Vol. I. p. 173. Trelease, Zoogloea and some related forms. (Johns Hopkins University etc.)

Remarks.

Media, in all cases, neutral when innoculated and acid on expiration of experiment.

In No. 1 the number of ccm of carbon dioxid in 688 ccm of media, gave 509,12 ccm; alcohol not found. Lactic and formic (?) acids were found.

5) Micrococcus.

We shall not introduce here the morphological and biological characters of this organism, as repeated tests in the bacteriological and chemical laboratory failed to show any gas. We give here however the results of work done in the chemical laboratory.

Cheese No. 17.

No.	Temp.	Date	Kind of sugar	Gas present after days 1	2	3	4	5	No. of ccm taken	CO_2 %	H %
1		July 29	Glucose	0	0	0	0	0	0	0	0
		Sept. 22	„	0	0	0	0	0	0	0	0
2		Aug. 2	Cane	0	0	0	0	0	0	0	0
		Sept. 22	„	0	0	0	0	0	0	0	0
3		Aug. 20	Lactose	0	0	0	0	0	0	0	0
		Sept. 15	„	0	0	0	0	0	0	0	0

Remarks.

In all these cases the organism produced an active growth, but in no case was there any sign of gas. If gas was produced at all, it only produced enough to saturate the medium; and if that was the case, it could produce carbon dioxid only.

Some work was also done with a bacillus isolated from buttermilk, but gas was not produced. Glucose was inoculated on Aug. 22nd, and on Aug. 23rd, it began to produce what appeared to be gas in the separatory funnel where air was present. Growth of the bacillus was evident in the lower flask, but gas did not pass over to the micrometer. Aug. 24th, the production of gas continued in the separatory funnel, but there was no indication of gas in the flask. Aug. 25th, all action ceased. When the medium in the lower flask was tested, it was found to be very acid; much more so than any of the previous ones. Showing that an action of some kind must have been going on very vigorously. The sugar was decomposed, not into carbon dioxid and hydrogen, but into some other products. This bacterium had distinct reducing properties, taking oxygen away from the air and using it in its growth.

Discussion of results.

In all cases, peptone bouillon containing either glucose, lactose or cane sugar was used. The reaction in all cases was neutral when the medium was inoculated, but was always found acid when the microorganisms had ceased their action.

Temperature has a great deal to do with the growth and also

with the rapidity of the formation of gas as is evident in all cases. In case of Bacillus aromaticus, where the medium was at 28° C it had produced on the second day 87,3 ccm of gas, while the medium which was at 18° C, on the fifth day produced only 45,3 ccm The action at higher temperatures stopped the sixth day, while at a lower temperature it ceased on the tenth day.

Bacillus aromaticus, does not produce gas on the first day. At 28° C the maximum production of gas occurred on the second and third days in case of the glucose sugar. In cane sugar, at the same temperature, the production of gas was not rapid at the beginning, but the maximum growth was on the fourth and fifth days. The total production of gas was about the same. The growth continued longer in the case of cane sugar than with glucose.

Looking at the tabulated results for Bacillus aromaticus, it will be seen that the organism produces gas in a solution of glucose and cane sugar, but it does not produce gas in solutions of lactose. As to the per cents of carbon dioxid and hydrogen, it will be seen that they are about as one is to three. There is however very little difference, about two to three per cent, between the amount produced in case of glucose sugar and that produced in case of cane sugar.

The number of days that bacteria will produce gas is not important, as this does not depend on length of time as has been shown.

Since the products of vital activity which will check their development, are different for different species.

In comparing the total amounts of gases produced by different species, it will be seen that they are most active in a glucose medium, with the exception of Bacillus mesentericus vulgatus which produces no gas in glucose. This, Dr. Smith writes, is very remarkable; as he has not encountered any such organism. Bacillus aromaticus and Bacillus gasoformans produce gas in solutions of glucose and cane sugar, but none in lactose. Bacillus coli communis on the other hand produces gas in solutions of all three sugars. The largest per cent of gas being produced in lactose solutions.

One of the most striking differences to be noted from these analyses in the case of Bacillus mesentericus vulgatus is the per cent of carbon dioxid and hydrogen in cane sugar; the organism having produced 62,1 of carbon dioxid and 37,8 of hydrogen, and in lactose the per cent of carbon dioxid was 26,4 and hydrogen 76,5, showing that in one sugar the per cent of carbon dioxid was more while in the other, it was much less. It is evident therefore, that it had less capacity to procure oxygen in one case than in the other.

The medium in which Bacillus aromaticus was grown, was tested for the amount of acid set free in its development. The original solution was titrated against a decinormal solution of potassium hydroxid. Phenolphthaleïn was used as an indicator, the following are the results:

Potassium hydroxid	Solution
3,8 ccm	5 ccm
3,5 „	5 „
3,5 „	5 „

By means of a picnometer the specific gravity was found to be 1,01. As stated above lactic acid was formed, and on this basis the per cent of free acid in the solution was found to be 0,62.

A solution in which Bacillus mesentericus vulgatus had grown, was tested in the same manner. In this case the specific gravity was 1,09. This solution was also titrated against a decinormal solution of potassium hydroxid. The result was as follows:

Potassium hydroxid	Solution
4,1 ccm	5 ccm
4,0 „	5 „
8,5 „	10 „

According to these results the per cent of free acid in the solution was 0,65. With one exception, that of Bacillus mesentericus vulgatus, grown in cane sugar media, the per cent of carbon dioxid is far less than the per cent of hydrogen.

We must take into consideration the large amount of carbon dioxid that is absorbed by the medium. Every ccm of medium contains 0,74 ccm of carbon dioxid; showing that really there is a larger per cent of carbon dioxid set free than is shown by the tabulated results. An analysis of the gas made on the second or third day will show a greater per cent of hydrogen than when the analysis is made at the end of the period of growth. This shows that at first the carbon dioxid is absorbed by the medium and hydrogen only escapes, while at the close of the period the carbon dioxid and hydrogen escape in the right proportions. Lactic acid seems to occur in nearly all cases. In distilling, the distillate was in but very few cases acid. While the residue which remained in the flask was in all cases very acid. Alcohol was formed in a few cases, and when produced it was in such small amounts that it was difficult to detect. In all cases the Jodoform test was used to show the presence of alcohol.

Comparing the results obtained in case of Bacillus coli communis, with those recorded by Theobald Smith, it will be seen that they differ somewhat. Dr. Smith has made many different kinds of experiments, using different forms of Bacillus coli communis, he found that the character of the medium had much to do with the results; Dr. Smith's tests were only approximate and limited to fermentation tube contents. Acid, alkaline and neutral solutions, as has already been shown by the experiments of Gärtner, will show differences in amount of gas formed. For a more detailed discussion of some of the points the literature quoted above should be consulted.

Tabulated results of gases produced and character of organisms.

No.	Species	Source	Motility	Gas reaction flask containing 2 % sugar bouillon: Glucose				Lactose				Saccharose				Potato	Milk coagulated
				Total gas Av.	% of H	% of CO_2	Re-action	Total gas Av.	% of H	% of CO_2	Re-action	Total gas Av.	% of H	% of CO_2	Re-action		
1	Bacillus aromaticus	Rotting Cabbage old culture in laboratory	Motile	77,05	73,6	26,36	acid	0	0	0		40,45	77,2	22,6	acid	Yellowish white growth slow when potate is dry	In 48 hrs.
2	B. gasoformans	Water from gelatine cultures, insuffiently sterilized	„	48,2	77,25	19,65	acid	0	0	0	acid	85,0	56,45	43,5	acid	growth granular with large, wrinkled. Soon coverts potato	Coagulates milk with alkaline reaction
3	B. mesentericus vulgatus	Potatoes	„	0	0	0	acid	22,8	76,5	25,4	acid	32,1	37,05	63,4	acid	after 24 hrs. shining white growth	Coagulates milk with acid reaction, not viscid
4	B. coli communis	Johns Hopkins University. Source not known		38	75,8	24,18	acid	31,15	71,95	28,0	acid	32,5	60,9	32,9	acid		
5	Micrococcus	Cheddar Cheese	Non motile	0	0	0		0	0	0		0	0	0			

Explanation of plate.

Figures 1, 2, 3, 4 and 10 Bacillus mesentericus vulgatus.
1) On agar. 2) On blood serum. 3) On potato. 4) On gelatine. 10) *a* Spores. *b* Vegetative rods. (Leitz $^1/_{12}$ homogenous immersion obj. and Zeiß compensating ocular.)

Figures 5, 6, 7, 8, 9 and 11 Bacillus gasoformans.
5) On blood serum. 6) On agar. 7) On gelatine. 8) On potate, a young culture. 9) Gelatine tube showing anaerobic character and gas bubbles. 11) *a* Spores. *b* Vegetative condition. (Leitz $^1/_{12}$ hom. imm. obj. and Zeiß comp. oc.)

Figures 1—9 drawn by Charlotte M. King. Figures 10—11 drawn by L. H. Pammel.

Zusammenfassende Uebersichten.

Neuere Arbeiten über die Knöllchenbakterien der Leguminosen und die Fixierung des freien Stickstoffs durch Organismen.

Von

Prof. Dr. Stutzer

in

Bonn.

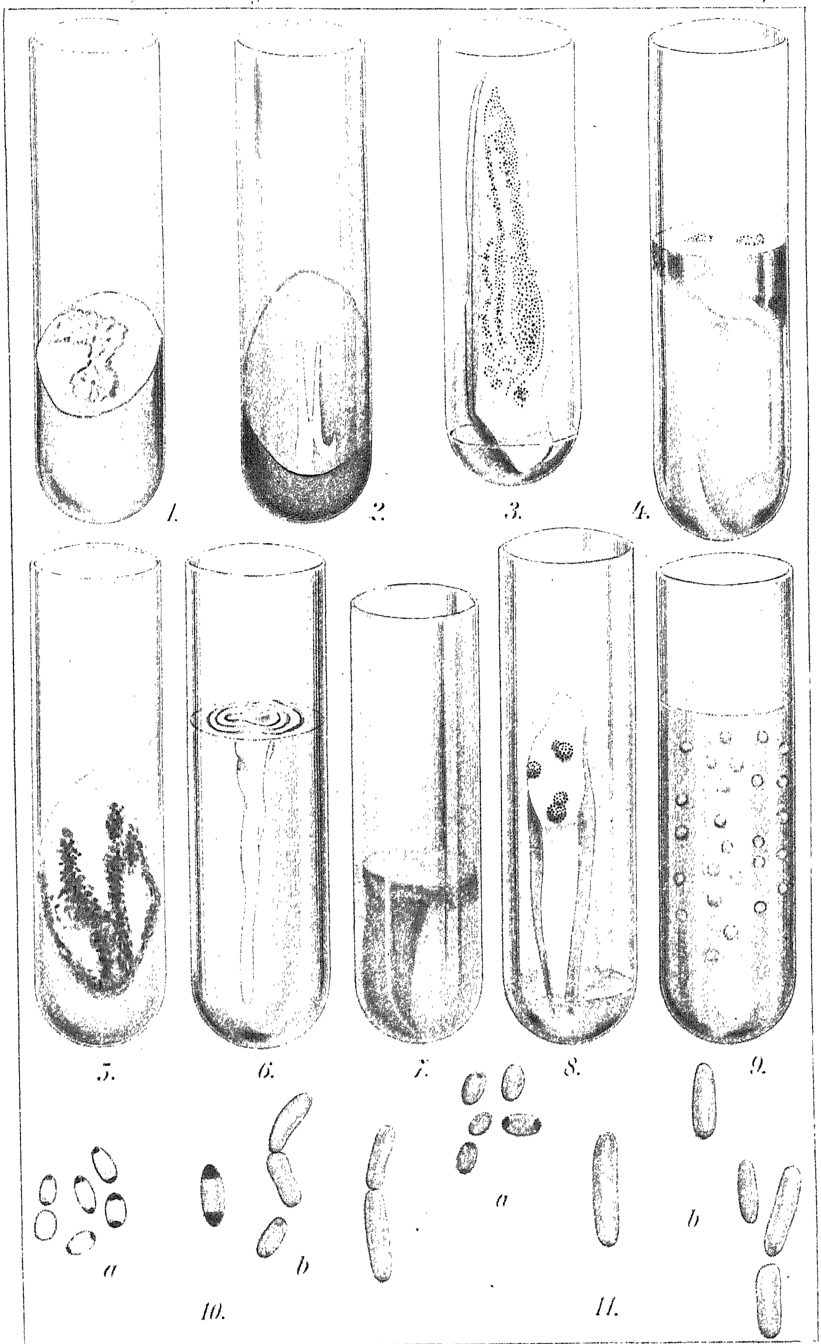
Im Anschluß an den Bericht in Bd. I, Abt. II, S. 68 dieses Centralblattes erlaube ich mir über die neuesten Beobachtungen folgendes mitzuteilen:

Jul. Stoklasa[1]) berührt die alte Streitfrage, ob nur die zur Familie der Leguminosen gehörigen Pflanzen die Fähigkeit besitzen, elementaren Stickstoff durch die Hilfe von Mikroorganismen zu verwerten oder ob dies, wenn auch in geringerem Maße, eine Eigenschaft sämtlicher grünen Gewächse ist. Letztere Ansicht wird bekanntlich von Berthelot[2]) und von Frank vertreten. Stoklasa sucht ebenfalls hierfür weitere Belege beizubringen, es ist ihm dies jedoch, wie Hiltner treffend nachwies[3]), nicht gelungen.

F. Nobbe und L. Hiltner haben die Versuche über die Anpassungsfähigkeit der Knöllchenbakterien ungleichen Ursprungs an verschiedenen Leguminosegattungen fortgesetzt[4]). Dem Versuchsplane lag die Idee zu Grunde, aus jeder der 6 landwirtschaftlich wichtigsten Gruppen, der Papilionaceen, der Phaseoleen, Vicieen, Trifolieen, Galegaceen, Genisteen und Hedysareen, mindestens eine Versuchsgattung zu wählen und die sich so ergebenden, sonst gleich behandelten Reihen verschieden zu impfen, nämlich mit Reinkulturen von Bakterien, welche den Knöllchen verschiedener Gattungen der ge-

---

1) Landw. Jahrbücher. Bd. XXIV. p. 828.
2) Comptes rendus. 1885—1887.
3) Biederm. Centralbl. f. Agrikulturchemie. 1896. p. 112.
4) Landw. Versuchsstat. Bd. XLVII. p. 257.



Gustav Fischer

nannten 6 Gruppen entstammten. Für jede Pflanzenart ergaben sich 6 Versuchsgefäße, welche mit reinkultivierten Knöllchenbakterien geimpft werden sollten, von Phaseol. multiflorus, Pisum sativum, Trifol. pratense, Robinia Pseudacacia, Lupinus luteus, Ornithopus sativus. Als Versuchspflanzen wurden gewählt: Phaseol. multiflorus, Pisum sativum, Vicia villosa, Lathyr. silvestris, Trifol. pratense, Medicago sativa, Robinia Pseudacacia, Lupinus luteus, Anthyllis Vulneraria, Ornithopus sativus. Das Nährmedium bestand für jedes Gefäß aus einem Gemenge von 1200 g lufttrockener Gartenerde (mit 3,45 g Gesamt-Stickstoff) und 6800 g reinen Quarzsandes. Das Gemisch wurde mit 0,5 g KCl und 5,0 g $Ca^3(Po^4)^2$ gedüngt. Das Sterilisieren der Töpfe und die sonstige Behandlung der später geimpften Kulturen geschah in derselben Weise, wie dies bei früheren Versuchen beschrieben ist. Ueber die Ergebnisse teilen wir folgendes mit:

Bei sämtlichen Versuchspflanzen hat sich abermals herausgestellt, daß eine Impfwirkung mit Sicherheit nur dann eintritt, wenn die Pflanzen mit Bakterien aus Knöllchen der eigenen Art geimpft wurden. Eine gegenseitige Vertretung, ohne wesentliche Herabminderung der Wirkung, wurde nur bei den Viciaceen beobachtet. Die Phaseolus-Bakterien haben, außer bei Phaseolus selbst, eine Knöllchenbildung und damit Förderung der Pflanzen bei sämtlichen Viciaceen hervorgerufen. Die graphisch in der betreffenden Abhandlung dargestellten Verdunstungslinien und die Photographieen von Pisum und Vicia lassen aber deutlich erkennen, daß diese Wirkung erst viel später eintrat, als die der Erbsenbakterien-Impfung. Eine geringe Wirkung der Phaseolus-Bakterien war außerdem noch bei Rotklee zu konstatieren.

Die Pisum-Bakterien haben, wie bei früheren Versuchen, außer bei Viciaceen auch bei Phaseolus zur Knöllchenbildung Veranlassung gegeben. Vollständig unwirksam blieben sie bei Trifolium und Medicago, bei Robinia, Anthyllis und Ornithopus.

Die Trifolium-Bakterien haben nur bei Rotklee volle Wirkung, bei Medicago eine sehr schwache geäußert, in allen übrigen Fällen blieben sie völlig unwirksam.

Die Robinia-Bakterien veranlaßten nur bei Robinia Knöllchenbildung und Förderung des Wachstums.

Die Lupinen-Bakterien endlich blieben in allen Fällen unwirksam, auch bei den Lupinen selbst, da die letzteren in dem sterilisierten Boden frühzeitig abstarben. Dadurch wird bestätigt, daß die Knöllchenbakterien in die Wurzeln kranker Pflanzen nicht eindringen.

Die Impfversuche mit Ornithopus waren aufgegeben, weil eine Reinkultur dieser Bakterien rechtzeitig sich nicht gewinnen ließ.

Bei den Versuchen trat ein Hungerstadium der Pflanzen in keinem Falle hervor, wenn die Pflanzen eine Impfung mit Bakterien der gleichen Art empfangen hatten. Ein scharf ausgeprägtes, längere Zeit anhaltendes Hungern nach Stickstoff stellte sich in solchen Fällen ein, wo die Knöllchen durch nicht völlig angepaßte Bakterien

entstanden und daher zur Zeit des eintretenden Stickstoffmangels noch nicht voll ausgebildet waren.

Die Förderung des Wachstums durch die Knöllchen erfolgte bei den verschiedenen Versuchsgattungen zu verschiedenen Zeiten. Vom Tage der Impfung an gerechnet, zeigte sich ein Erfolg derselben bei Phaseolus in 14, bei Pisum in 19, bei Vicia in 27, bei Trifolium in 32, bei Robinia in 46, bei Lathyrus in 60 Tagen. Dieser Erfolg war schon einige Zeit vorher fast auf den Tag genau voraus zu sagen, und zwar aus der Wasserverdunstung einerseits, aus dem beginnenden Hungern der nicht oder unwirksam geimpften Pflanzen andererseits.

Es unterliegt keinem Zweifel, sagen die Versuchsansteller, daß dieser Zeitpunkt jener war, zu welchem der Bodenstickstoff nicht mehr ausreichte, die Bedürfnisse der Pflanzen zu befriedigen; das gleichzeitig beginnende Hungern der nicht durch Knöllchen geförderten Pflanzen liefert hierfür den unwiderleglichen Beweis. Aus diesen Thatsachen lassen sich zwei wichtige Schlüsse ableiten:

1) Daß die Knöllchen für das oberirdische Wachstum der Leguminosen ohne wesentlichen Einfluß sind, so lange den Pflanzen Bodenstickstoff in ausreichender Menge zur Verfügung steht.

2) Daß von dem Zeitpunkte an, wo der Bodenstickstoff zu mangeln beginnt, solche Leguminosepflanzen, welche von Knöllchen frei sind oder noch nicht ausgebildete Knöllchen besitzen, nicht mehr imstande waren, ihren Stickstoffbedarf auf andere Weise zu decken; daß also insbesondere die Blätter der Leguminosen kaum als Organe betrachtet werden können, welche den freien Stickstoff der Luft assimilieren.

M. Gonnermann hat ebenfalls mit Reinkulturen von Knöllchenbakterien sich beschäftigt[1]). Der Nährboden wurde aus 100 g ausgepreßtem Lupinenkrautsaft, 10 g Gelatine, 3 g Fleischpepton hergestellt, und mit Saft aus den Knöllchen der Lupine geimpft. Die Bakterien entwickelten sich sehr gut. Aus Boden, welcher im Januar gefroren war, konnte Verf. keine Bakterien züchten, dagegen war dieser Boden zur Vegetationszeit sehr reich daran.

Kirchner hatte seit einem Jahrzehnt im botanischen Garten Sojabohnen angebaut[2]), aber niemals an deren Wurzeln Knöllchen beobachtet, trotzdem zahlreiche Papilionaceen in der Nähe wuchsen. Später erhielt Kirchner aus Japan eine Bodenprobe, von einem Sojafelde entnommen, er benutzte diesen Boden zur Impfung und erzielte die Knöllchenbildung. Die Nobbe'schen Erfahrungen werden hierdurch bestätigt. In unfruchtbarem Lehmboden erfolgte die Knöllchenbildung sicherer und reichlicher als in gutem Gartenboden. Diese Thatsache stimmt mit den Beobachtungen anderer Forscher überein, wonach die Entwickelung der Knöllchen und die Bindung von freiem Stickstoff besser in einem stickstoffarmen Boden geschieht.

Vor einigen Jahren glaubte Salfeld bei Feldversuchen die Beobachtung gemacht zu haben, daß gebrannter Kalk die Knöllchen-

1) Landw. Jahrb. Bd. XXIII. p. 652.
2) Beiträge z. Biologie der Pflanzen. Bd. VII. Heft 2. Breslau 1895.

bildung der Erbsen hindert[1]). In neuerer Zeit hat B. Tacke diese Frage eingehend verfolgt[2]) und kommt zu dem Resultat, daß die Beobachtungen Salfeld's eine andere Ursache haben müssen. Im Gegenteil wirkte in verschiedenen Bodenarten der Kalk nur günstig auf die Knöllchenbildung ein.

Referate.

Bau, Arminius, Ueber die Vergärbarkeit der Galaktose. (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 1896. No. 38 u. 39.)

In der Litteratur lauten, mit Ausnahme der Melitriose, deren Verhalten gegenüber den verschiedenen Hefen nunmehr endgiltig festgestellt ist, über keine Zuckerart die Angaben bezüglich der Vergärbarkeit so widerspruchsvoll wie über Galaktose oder richtiger d-Galaktose.

Während Pasteur, Fudakowski, v. Lippmann, Stone und Tollens d-Galaktose vergären konnten, behaupteten Dubrunfaut, Koch, Kiliani, Herzfeld und Hayduck die Unvergärbarkeit dieses Zuckers. Bourquelot, zum Teil auch Koch, nahmen eine Mittelstellung ein. Nach ihnen sollte reine Galaktose unvergärbar, dagegen Galaktose, mit gärfähigen Stoffen gemischt, vergärbar sein.

Der Verf. giebt zunächst eine übersichtliche Zusammenstellung über die von den genannten Forschern ausgeführten Versuche. Die abweichenden Resultate sind auf die verschiedenen Versuchsbedingungen, unter denen gearbeitet wurde, zurückzuführen. Stone und Tollens[3]) richteten ihr Augenmerk besonders auf die Reindarstellung der d-Galaktose. Ihre Untersuchungen beschließen einen bedeutungsvollen Abschnitt in unserer Kenntnis von der Vergärbarkeit der Galaktose. Die beiden Forscher stellten ihre Gärversuche mit Bierhefe (Unterhefe), mit und ohne Nährlösung an. Es ergab sich, daß die Hefe ohne Nährlösung Galaktose nicht vollständig, mit Nährlösung indessen fast vollständig vergären konnte. Der Verlauf der Gärung wurde zunächst durch die Entwickelung der Kohlensäure kontrolliert, und schließlich durch die Bestimmung des gebildeten Alkohols festgestellt. Da nun aber eine absolut genaue Alkoholbestimmung bei Gärversuchen nicht auszuführen ist (teilweises Mitfortreißen von Alkohol durch die entweichende Kohlensäure, Bildung mehr oder weniger Nebenprodukte, je nach der Zuckerart), so ist der Verf. der Ansicht, daß Stone und Tollens die Galaktose vollständig vergoren haben. Während diese Versuche und die früheren der anderen Forscher mit gewöhnlicher Bierhefe oder Getreidepreßhefe (Oberhefe) angestellt

1) Deutsche landw. Presse. 1894. No. 83.
2) Mitt. des Vereins z. Förderung der Moorkultur. 1895. p. 389.
3) Ber. d. deutsch. chem. Gesellschaft. 1888. Bd. XXI. p. 1572—1578.

wurden — allerdings verwendete Stone auch reingezüchtete Hefe — ließen Emil Fischer und Hans Thierfelder[1]) verschiedene reine Heferassen bei ihren Untersuchungen über die Vergärbarkeit der verschiedenen Zuckerarten auf letztere einwirken. Mit diesem Studium beginnt eine neue Aera. Die Unvergärbarkeit der Galaktose für Saccharomyces apiculatus war bereits von F. Voit[2]) und Cremer[3]) nachgewiesen.

Nach E. Fischer und Thierfelder folgt, daß Galaktose für Unter- und Oberhefe vergärbar ist. Die verwendeten Rassen zeigten sich aber in dem schnellen Verlaufe der Gärung verschieden. Sacch. cerevisiae I Hansen, eine obergärige Art, vergor wie Brauereiunterhefe Galaktose innerhalb 8 Tagen vollständig. Eine andere obergärige Hefe (Brennereihefe) hatte Galaktose nach 8 Tagen noch nicht vollständig vergoren. Von anderen neuen Arbeiten erwähnt Verf. noch die von Neumann-Wender[4]), aus dessen Studien hervorgeht, daß Unterhefe die Galaktose leichter vergärt als Oberhefe.

Die vielfach unrichtigen Interpretationen der Fischer'schen Arbeit hatten zur Folge, daß über die Vergärbarkeit der Galaktose noch Zweifel bestehen konnten. Es hat sich teilweise die Meinung ausgebildet, da die bei dem einen Versuche verwendete Brennereioberhefe innerhalb 8 Tagen keine vollständige Vergärung der Galaktose ergab, daß die Oberhefe die Galaktose nur partiell vergären könne. Nach brieflicher Mitteilung Emil Fischer's an den Verf. hat Fischer keineswegs die Ansicht ausgesprochen, Galaktose sei für Oberhefe nur teilweise vergärbar. Dasselbe gilt für S. ellipsoideus I, für welche Hefe Fischer und Thierfelder nach 8 Tagen eine fast vollständige Vergärung fanden. Es unterliegt aber nach dem Verf. keinem Zweifel, daß diese Hefe bei längerer Gärdauer ebenfalls absolut vollständig vergärt.

Die eingehenden Untersuchungen des Verf.'s bringen eine wünschenswerte Ergänzung und Aufklärung betreffs der Vergärbarkeit der Galaktose gegenüber verschiedener Heferassen.

Die Zusammenfassung aller Resultate ergiebt Folgendes:

d-Galaktose ist unvergärbar für Sacch. productivus, membranae faciens, apiculatus und Schizosaccharomyces Pombe. Sie wird (unter geeigneten Bedingungen) vollständig vergoren von Sacch. cerevisiae und zwar sowohl von den obergärigen, wie den untergärigen Arten vom Saaz- und Frohbergtypus, ferner von S. Logos, S. Pastorianus I, II, III, S. ellipsoideus I, II, S. Marxianus, Milchzuckerhefe und Monila candida. Letzterer Pilz bewirkt in Galaktoselösungen, ebenso wie meist bei anderen Zuckerarten und diastatischen Dextrinen, nur eine träge Gärung.

d-Galaktose wird schwieriger vergoren als d-Glukose. Ob sie leichter oder schwieriger in Gärung versetzt wird als d-Fruktose,

---

1) Ber. d. deutsch. chem. Gesellschaft. 1894. Bd. XXVII. p. 2031.

2) Zeitschr. f. Biologie. Bd. XXIX. p. 149.

3) Zeitschr. f. Biologie. Bd. XXXI.

4) Die „Preßhefe des Handels". (Zeitschrift f. Nahrungsmitteluntersuchung. 1896. No. 9—12.)

welche bekanntlich auch schwieriger vergärt als d-Glukose, ist bisher nicht untersucht.

Daß Oberhefe d-Galaktose schwieriger vergärt als Unterhefe, ist bisher nicht sicher erwiesen. Nur ein Versuch von Emil Fischer und Hans Thierfelder läßt sich in diesem Sinne deuten, während ein anderer Versuch mit dem obergärigen Sacch. cerevisiae I Hansen einen Unterschied nicht aufwies.

Zu bemerken ist, daß diese Schlußfolgerungen aus Gärversuchen mit absolut reiner Galaktose gezogen wurden. Käufliche Galaktose enthielt nach dem Verf. geringe Mengen von Laktose und Glukose. Mittels der Osazonprobe lassen sich bereits Spuren von Laktose nachweisen, indessen läßt sich die Verunreinigung durch Glukose in geringer Menge nicht konstatieren. Drehung[1]) und Reduktion lassen einen Schluß auf die Beimischung einer geringen Menge einer anderen Zuckerart nicht zu, da die Werte durch letztere in winziger Menge zu minimal beeinflußt werden. Oxydation mit Salpetersäure und Bestimmung der hierdurch erhaltenen Produkte ist noch weniger geeignet. Wir haben aber in der physiologischen Methode ein exaktes Mittel, um Spuren Glukose nachzuweisen. Verf. giebt folgendes Verfahren:

Die mit genügenden Nährstoffen versetzte Galaktoselösung wird unter den üblichen Bedingungen mit Sacch. apiculatus geimpft und einige Tage (10) bei 25—30° C aufbewahrt. Von der ursprünglichen und der mit Sacch. apiculatus behandelten Lösung nimmt man nach dem Auffüllen auf das ursprüngliche Gewicht das spezifische Gewicht und die Polarisation. Sind die nach der Behandlung mit Sacch. apiculatus erhaltenen Zahlen geringer als die der Vergleichsprobe, so war die Galaktose nicht rein, sondern enthielt Spuren Glukose. Munsche (Wandsbek-Hamburg).

Kayser, M. E. u. Barba, M. G., Contribution à l'étude des levures de vin. (Extr. du Bull. du ministère de l'agriculture. Paris 1896. 45 p.)

Die Verff. haben aus einer größeren Anzahl von Trubs von Weinen aus dem Departement Gard Hefereinkulturen hergestellt und dieselben nach mehrfachen Gesichtspunkten vergleichend unter sich und mit einigen anderen Hefen verschiedener Weinbaugegenden Frankreichs und anderer Länder untersucht. Die Scheidung dieser Reinkulturen geschah nach ihrem Verhalten in der gleichen Nährlösung, welcher verschiedene Mengen (1—3 Proz.) Weinsäure zugesetzt worden waren. Außerdem wurden diejenigen Hefen, welche sich gegenüber gleichen Säuremengen hinsichtlich der Schnelligkeit der Entwickelung gleich verhielten, auch noch unter dem Mikroskope verglichen.

Schließlich blieben von sämtlichen Reinkulturen aus den Hefen des Gard 15 verschiedene übrig; hierzu kamen dann noch Hefen aus anderen Gebieten, so daß im ganzen 37 untersucht wurden. Zur

1) Bei der Bestimmung des optischen Drehungsvermögens nach wiederholtem Umkrystallisieren ist der höchsterreichte Wert der richtige, da der konkurrierende Zucker, Glukose, geringer dreht.

Charakterisierung dieser Hefen zogen die Verff. außer den genannten auch noch die folgenden Merkmale bei, wodurch konstatiert werden konnte, daß die Scheidung der Hefen des Gard eine innerlich begründete war, und daß sich dieselben außerdem von den anderen, gleichzeitig untersuchten, verschieden verhielten:

1) Die Beschaffenheit des Hefenabsatzes nach der Gärung;
2) das mehr oder weniger ausgesprochene Hinaufsteigen des Hefenabsatzes an der Wandung des Kulturgefäßes und die Entwickelung oder das Fehlen eines Heferinges;
3) die mittlere Größe der Zellen aus gleichalterigen Kulturen;
4) die Widerstandsfähigkeit gleichalteriger Hefezellen gegen ein 5 Minuten langes Erhitzen bei 50 und 55°;
5) die Zeit des Auftretens der ersten Sporenanlagen auf dem Gipsblocke bei 25°.

Nachdem alle Beobachtungen unter strenger Einhaltung gleicher Bedingungen angestellt wurden, messen die Verff. denselben auch eine gewisse Bedeutung für die Unterscheidung ihrer Hefen bei.

Ohne auf die morphologischen und physikalischen Eigenschaften der 37 Hefen näher einzugehen, sei nur hervorgehoben, daß bei zwei derselben (die eine aus der Champagne, die andere aus dem Gard) unter den eingehaltenen Bedingungen keine Sporen gebildet wurden. Bei den übrigen 23 Hefen, bei welchen Angaben über die Sporenbildung gemacht werden, bewegt sich die Zeit für das erste Auftreten derselben zwischen 24 und 288 Stunden; bei 12 (= 32 Proz.) wurden die ersten Sporenanlagen nach 24 Stunden, bei 1 (= 3 Proz.) nach 30, bei 4 (= 12 Proz.) nach 36, bei 5 (= 15 Proz.) nach 48, bei 1 (= 3 Proz.) nach 66, bei 3 (= 9 Proz.) nach 72, bei 1 (= 3 Proz.) nach 96 Stunden beobachtet. Bei den übrigen Hefen erfolgte die Sporenbildung erst nach 100—288 Stunden.

Durch einzelne der angegebenen Merkmale sind einige der Hefen sehr scharf charakterisiert. So heben sich beispielsweise die Hefen 1, 2, 3, 7 und 20 auf den ersten Blick von der Gruppe der 37 durch das ganz besondere Aussehen des Bodensatzes ab, welches sie in der Gärflüssigkeit, dieselbe mag wie immer beschaffen sein, bieten. Nach dem Aufschütteln fällt der Absatz sofort wieder in groben Klumpen zu Boden, während sich die überstehende Flüssigkeit völlig klärt. Hierzu gehört auch das Aufsteigen des Bodensatzes an der Wandung des Kulturgefäßes, welches bei einigen der Hefen, beispielsweise bei No. 7, 26, 32, 25, 4, 15 und 12, sehr scharf ausgeprägt ist, während es bei den anderen fast gar nicht zum Vorscheine kommt.

Ein weiterer Versuch, der dazu dienen sollte, die einzelnen Reinkulturen zu spezifizieren, wurde in der Weise angestellt, daß letztere in Rübenwasser, welches 25,3 Proz. Zucker enthielt, eingesät und bei 25° zur Gärung gebracht wurden. Hierbei ergab sich, daß trotz des hohen Zuckergehaltes die Hefen 11, 35, 9 und 27 fast die ganze Menge, andere dagegen nur etwa $^2/_3$ derselben verbraucht hatten. Unter abnormale Bedingungen in Beziehung auf den Zuckergehalt gebracht, haben also diese Hefen den zwischen ihnen bestehenden Unterschied auf das Aeußerste getrieben und damit zugleich ein neues Mittel an die Hand gegeben, sie zu spezifizieren.

Beim Studium der Weinhefen, welche in dem Midi erprobt werden sollten, mußte in erster Linie die Aciditäts- und Temperaturfrage während der Gärung interessieren. Die Verff. ließen daher in einer ersten Versuchsreihe jede der Hefen in dem gleichen, sehr zuckerreichen Moste, der außerdem mit Weinsäure angesäuert war, bei 25 ⁰ und 35 ⁰ gären. Die Temperatur von 35 ⁰ wird in der Gegend des Midi im September während der Gärung im Fuder oft erreicht, manchmal wird dieselbe sogar noch überschritten. Die Nährflüssigkeit bestand aus einem halben Liter Rübenwasser, welches im Liter 188,760 g Zucker, 6,02 g Weinsäure und 223,70 g Gesamtextrakt, nach Abzug des Zuckers also 42,94 wirklichen Extrakt enthielt.

Nach Abschluß der Gärung wurden bestimmt: die Menge des übriggebliebenen Zuckers mittels Fehling'scher Lösung, der Alkohol nach der Tropfenzählmethode von Duclaux, die Gesamtacidität mittels Lackmuspapieres. Die flüchtigen Säuren wurden nach der Methode von Duclaux titriert (es handelte sich, wie der Versuch zeigte, um fast reine Essigsäure). Außerdem wurde die Menge der erhaltenen Hefe und der Extrakt durch Verdampfen von 20 ccm Flüssigkeit auf dem Wasserbade bestimmt.

Die Gärung ergab folgende Grenzzahlen:

	Extrakt p. 1000 g	Hefegew. p. 1000 g	Alkohol Volumen p. 1000 ccm	Gesamtsäure g	Fixe Säur. Total g	Flüchtige Säuren g	Verbraucht. Zucker p. 1000 g	Gärvermögen	Extrakt = Restzucker g	Glycerin p. 1000 g	Bernsteinsäure p. 1000 g
bei 25⁰ Max.	38,800	1,976	98,10	3,19	2,07	1,293	178,060	139,70	16,706	6,204	1,063
bei 25⁰ Min.	17,400	1,206	64,60	2,05	1,10	0,700	156,215	90,02	14,904	1,958	0,430
bei 35⁰ Max.	170,610	1,876	70,730	3,320	1,390	9,943	144,094	132,6	38,240	2,990	0,379
bei 35⁰ Min	55,825	0,566	18,100	1,360	0,345	0,461	40,260	70,8	11,725	0,154	0,088

Aus den in der Tabelle für die Gärung bei 25 ⁰ zusammengestellten Ziffern ergiebt sich, daß jede der 37 Heferassen sich thatsächlich von den anderen sowohl durch die Art und Weise, wie sie den Zucker angreift, als auch durch die wechselnde Menge der Produkte, die sie bei der Gärung giebt, unterscheidet. Wenn man bedenkt, daß schon eine verhältnismäßig geringe Dosis irgend eines der Bestandteile des Weines den Geschmack beeinflussen kann, so erscheint es immerhin möglich, durch Einsaat einer bestimmten Hefe in den Gärbottich einen Wein zu verbessern oder vielmehr den ganzen Gang der Gärung zu ändern.

Die bei 35 ⁰ durchgeführte Gärung zeigt noch viel ausgesprochenere Differenzen und Gruppierungen, welche weit sichere Schlüsse, als die bei 25 ⁰ erhaltenen, zu ziehen erlauben.

Die einheimischen Hefen accomodieren sich, was die Ausnutzung des Zuckers betrifft, viel besser in der höheren Temperatur als die Rassen anderer Gegenden. Die für einen Wein zu befürchtenden Gefahren bei einer unvollständigen Gärung sind viel zu groß, als daß einem derartigen Resultate nicht die größte Aufmerksamkeit geschenkt werden müßte.

Im Folgenden werden die bei 25° und bei 35° erhaltenen Ziffern mit einander verglichen und eingehend diskutiert.

Die Vergleichung der beiden Versuchsreihen ergiebt, daß die höhere Temperatur bei Verwendung einer sehr zuckerreichen und ziemlich stark angesäuerten Nährflüssigkeit einen schlechten Einfluß auf alle Hefenarten ausübte in der Weise, daß sie die Gärung aufhielt, bevor noch der ganze Zucker, welcher ihnen geboten wurde, zerlegt war. Die in dieser Beziehung beste der Hefen (No. 32) konnte nur 140 von 180 g im Liter zum Verschwinden bringen. Es ergaben sich auch sehr bedeutende Unterschiede hinsichtlich der Menge des Rückstandes bei jeder der mit den Reinhefen durchgeführten Gärung. Dieselbe war im allgemeinen sehr hoch, sobald der Wein mit Hefen, welche nicht aus der Gegend (Champagne, Saint-Émilion, Tokay) stammten, vergoren war; dagegen wurden diese Mengen von unvergorenem Zucker geringer bei Anwendung von einheimischen, aus Trubs von Weinen des Gard isolierten Hefen, und unter diesen speziell der letzten in der Tabelle.

Durch die Anwendung dieser Hefen in der Praxis darf man also hoffen, einen Wein von besserer Haltbarkeit zu bekommen.

Die Vergleichung der beiden Gärungen bei 25° und 35° läßt ersehen, daß thatsächlich die Temperatur die Ursache dieser Differenzen in der Zerlegung des Zuckers ist, da bei 25° die Menge des verbrauchten Zuckers, abgesehen von vereinzelten Ausnahmen, die Tendenz zeigt, für alle Hefen den gleichen Wert zu erreichen.

Die Vergleichung der Mengen der erhaltenen flüchtigen Säuren bei gleichem Zuckerverbrauch hat gezeigt, daß dieselben bei 35° immer höher als bei 25° sind, im übrigen aber variierten. Allgemein waren dieselben bei den einheimischen Hefen nicht so groß als bei den fremden.

Das Studium der übrigen bei den beiden Temperaturen erhaltenen Produkte ebenso wie dasjenige der Zahlen, welches sie auf 100 g vergorenen Zucker berechnet liefern, erlaubte nicht ebenso scharf begrenzte Gruppen aufzustellen. Es ergab sich nur, daß trotz der sehr deutlichen Unterschiede zwischen den einzelnen der 37 Hefenarten gleichwohl bestimmte Gruppen gebildet werden können, und zwar viel engere, als durch den Vergärungsgrad bei 35°.

Um also zu einem sicheren Erfolg in der Praxis mit reinen Hefen zu gelangen, dürfte es empfehlenswert sein, sich nur an einige Hefen mit mittleren Eigenschaften zu halten, von welchen die Versuche gezeigt haben, daß sie bei einer Ernte von mittlerer Zusammensetzung vorzuziehen sind.

Unter praktischen Verhältnissen spielen so mannigfache Faktoren, hauptsächlich die Säuerung des Gärmediums, der Gehalt an Zucker und Stickstoff, sowie an bestimmten, noch wenig gekannten Elementen, die Temperatur etc. eine große Rolle. Die Variation des einen oder des anderen derselben macht sich unmittelbar bei der Hefe geltend und übt einen Einfluß auf den allgemeinen Gang der Gärung aus.

In den beiden ersten Versuchsreihen enthielt der Most die gleiche Zucker- und die gleiche, ziemlich hohe Säuremenge. Verff. haben daher noch zwei Kontrollversuche angestellt, in welchen der Einfluß

der Zuckermenge und des Grades der Säuerung untersucht wurde, und zwar

1) Versuche bei 25° und 35° in einer neutralen Nährflüssigkeit mit einer relativ großen Zuckermenge.

2) Versuche bei den gleichen Temperaturen in einer Gärflüssigkeit mit und ohne Weinsäurezusatz, welche einen viel schwächeren Zuckergehalt besaß.

In der ersten Versuchsreihe, bei welcher 4 Hefen verwendet wurden, enthielt das Rübenwasser 176,87 g Zucker im Liter.

Die Verff. ziehen folgende Schlußfolgerungen:

1) Die Menge des verbrauchten Zuckers ist bei 25° die gleiche, gleichgiltig ob Säure zugegen ist oder nicht und welche Hefenarten zur Gärung verwendet wurden. Die Temperaturen und eine große Säuremenge üben einen größeren Einfluß als die Temperatur allein auf die Nichtzerlegung des Zuckers aus, welcher außerdem in den beiden Fällen viel leichter durch die Hefen des Midi vergoren wurde als durch empfindliche Hefen.

2) Die Temperatur allein vermindert mehr oder weniger bei diesen Hefen die prozentische Menge des Alkohols, der fixen Säuren und der Hefe; sie vermehrt dagegen im allgemeinen die Produktion der flüchtigen Säuren und das Gärvermögen. Im Verein mit einen starken Säuregehalt wirkt diese Temperatur nicht in der gleichen Weise; es kommt hierbei auf den Charakter der einzelnen Versuchshefen an. Die Hefe 2 scheint sich viel mehr von den anderen zu entfernen, indem sie dem Säuregehalt gegenüber bei 25° weniger empfindlich erscheint. Die anderen Hefen ändern bei dieser Temperatur ihr Verhalten.

Der zweite Kontrollversuch wurde nur mit 2 Hefen durchgeführt. Die Gärflüssigkeit enthielt nur 86,207 g Zucker im Liter und 2,22 g Weinsäure. Dieselbe führte im allgemeinen zu ganz ähnlichen Resultaten wie der erste.

Beide Kontrollversuche bestätigten also, daß die höhere Temperatur in der That einen Einfluß auf die durch die verschiedenen Hefen herbeigeführte Umsetzung des Zuckers ausübt, insbesondere bei Gegenwart eines Uebermaßes von Zucker und Säure. Dieselben haben außerdem gezeigt, daß ein hoher Gehalt an Zucker die Zersetzung des letzteren bei höherer Temperatur, insbesondere durch gewisse fremde Hefen, aufhält. Auf der anderen Seite ist der Einfluß der Säuerung, und zwar selbst sehr hoher, sobald die Temperatur nicht ins Spiel kommt, auf die einheimischen Hefen, wie beispielsweise No. 32, viel größer als auf die Hefe 2, welche hauptsächlich gegenüber der Temperatur empfindlich ist.

Bemerkenswert ist außerdem, daß gewisse Hefen, trotz der äußeren Bedingungen, unter welchen sie sich befinden, ihre Fähigkeit, wenig oder viel von bestimmten Produkten hervorzubringen, beibehalten.

H. Will (München).

Cluß, A., Die praktischen Erfolge der Arbeitsweise ohne Säuerungsprozeß mit nach Effront in Flußsäure akklimatisierter Hefe (Zeitschr. f. Spiritusindustrie, Jahrg. XVIII. p. 166—174.)

Verf. konnte schon früher auf Grund gewisser Versuche als wahrscheinlich hinstellen, daß es in Zukunft gelingen würde, den in den Gärbottichen spontan auftretenden Säuerungsprozeß durch Anwendung eines modifizierten Flußsäureverfahrens ganz zu unterdrücken. Das Hauptprodukt dieses Säuerungsprozesses, die Milchsäure, mußte bisher geduldet werden und wurde in seiner Entwickelung sogar absichtlich gefördert seiner antiseptischen Eigenschaften wegen. Diese Milchsäurebildung erfolgt aber auf Kosten eines Teiles des gärfähigen Materials. Das Grundprinzip der neueren Arbeitsweise besteht nun darin, die Flußsäure als alleiniges Antiseptikum sowohl für die Hefe als für die Hauptmaische anzuwenden, zuvor aber die Hefe durch systematische Züchtung im Laboratorium an den Fluorgehalt zu gewöhnen, der einen äquivalenten Ersatz für die antiseptische Wirkung der Milchsäure bietet. Daß eine Akkommodation der Heferassen an beliebige Mengen von Flußsäure bis zu einem gewissen Grade möglich ist, haben diesbezügliche Versuche gezeigt.

Nachdem Verf. sich durch Laboratoriumsversuche von den Vorteilen des neuen Effront'schen Verfahrens überzeugt hatte, bot sich ihm Gelegenheit, in zwei größeren Betrieben die Anwendung desselben persönlich zu verfolgen und nach den dabei gemachten Beobachtungen steht er nicht an, den Praktikern die Neuerung warm zu empfehlen. Burri (Bern).

Wittelshöfer, P., Milchsäure oder Flußsäurehefe. (Zeitschrift für Spiritusindustrie. Jahrg. XVIII.)

Verf. findet, daß Cluß die praktische Bedeutung des neuen Effront'schen Verfahrens überschätzt. Das sog. Milchsäureverfahren ist in den letzten Jahren so vervollkommnet und in der Handhabung so vereinfacht worden, daß eine Unsicherheit im Erfolg bei Hefeführung mit Milchsäuregärung nicht zu befürchten ist. Immerhin ist das große wissenschaftliche Verdienst Effront's nicht zu verkennen, welches darin besteht, daß er die Aufgabe, eine Hefeführung mit Ausschluß der Milchsäuregärung zu ermöglichen, glücklich gelöst hat. Burri (Bern).

Benjamin, Richard, Beitrag zur Lehre von der Labgerinnung. [Inaug.-Dissert.] 8°. 32 p. Berlin 1896.

Trotz der vielen Untersuchungen, welche über den Vorgang der Labgerinnung angestellt worden sind, harren einige Punkte immer noch der definitiven Klärung. Es fehlt auch nicht an Untersuchungen, welche zu Ergebnissen geführt haben, die in vielen Einzelheiten von den allgemein geltenden Anschauungen abweichen.

Verf. will in seiner Arbeit zunächst schildern:

1) Wie sich das Lab gegenüber dem Kaseïn der Milch bei Gegenwart fremder Substanzen resp. verschieden behandelter Milch (gekocht, sterilisiert u. s. w.) gegenüber verhält;

2) die Wirkung einer Lablösung, welche an sich fremde Körper (z. B. Chloroformwasser) enthält;

3) die Einwirkung des Labs auf andere Eiweißkörper tierischen und pflanzlichen Ursprungs.

Am schnellsten gerinnt die Milch, wie bekannt, bei saurer Reaktion, langsamer bei neutraler; allzu alkalische Beschaffenheit der Milch hebt die Gerinnung gänzlich auf. Etwas langsamer, allerdings nicht viel, gerinnt die Chloroformmilch.

Wieder langsamer als diese gerinnt die mit Wasser verdünnte. Das Wasser verzögert die Gerinnung mit Zunahme der Verdünnung, bei einer starken tritt Koagulation nicht mehr ein.

Langsamer wiederum als die mit Wasser verdünnte läßt die mit Chloroformwasser verdünnte Milch Koagulation eintreten.

Was die gekochte Milch anbetrifft, so ist die Angabe von Eugling, gekochte Milch könne durch Lab überhaupt nicht koaguliert werden, wie die von Schaffer, die gekochte Milch könne nur in Gegenwart von Säuren, mindestens Kohlensäure, zur Gerinnung gebracht werden, unrichtig. Sie gerinnt bei Zusatz von 0,1 Labpulver in 5 Minuten.

Was schließlich die sterilisierte Milch betrifft, so war weder die vom Verf. selbst sterilisierte, noch die im Handel befindliche auf irgend eine Weise zur Koagulation zu bringen.

Die Gegenwart kleiner Mengen Chloroform in der Mischung befördert die Gerinnung; die mit Chloroformwasser hergestellten Lablösungen erweisen sich am 1.—3. Tage deutlich wirksamer als die mit Wasser hergestellten. Vom 4. Tage an kehrt sich das Verhältnis um. Die mit Wasser hergestellte Lablösung bleibt bis zum 13. Tage wirksam, die mit Chloroformwasser nur bis zum 6. Tage.

Größere Quantitäten Chloroform hemmen die Gerinnung.

Das Lab wirkt nur auf das Kaseïn der Milch, sonst auf keine Stoffe tierischen oder pflanzlichen Ursprungs.

Alle mit Lab gerinnenden Kaseïnlösungen reagieren ebenso wie die Milch für Lakmoid alkalisch, für Phenolphthaleïn sauer.

Eine Kaseïnlösung ist nur bei Anwesenheit von löslichen Kalksalzen (z. B. Calciumchlorid, Calciumsulfat) gerinnbar.

E. Roth (Halle a. S.).

Laboulbène, A., Sur des épis de mais attaqués par l'Alucite des céréales dans le midi de la France. (Compt. rend. T. CXVIII. p. 601.)

Von Insekten angegriffene Maiskolben, die von der spanischen Grenze stammten, lieferten einen Schmetterling, ähnlich der Sitotroga cerealella Olivier. Diese Art, welche die echte Kornmotte Réaumur's darstellt, ist durch diesen seit 1736 als Schädling der Gerste und des Weizens bekannt, deren Körner sie im Raupenzustande ausfrißt. Später haben zahlreiche Autoren, unter ihnen Duhamel und Bosc, diese Species mit Tinea granella zusammengeworfen, deren Raupe in einem Cocon an der Außenseite der zu Haufen vereinigten Körner, nie im Innern derselben lebt.

Die Sitotroga, welche dem Mais entstammt, ist größer als jene des Weizens (Länge 9 mm, Spannweite 14—18 mm). Sie erscheint zweimal, im Juni und Juli-August. Die Eier werden an die

Körner bereits im Freien oder im Speicher gelegt. Die dem Ei entschlüpfende Raupe ist rot, später erscheint sie weißlich mit schwarzem oder braunem Kopf. Das Innere des Kornes wird von derselben nie ganz aufgezehrt. Der von ihr durch das Korn erzeugte Gang erweitert sich allmählich und ist nach außen meist durch einen Deckel abgeschlossen, der aus der dünn gewordenen Oberhaut besteht. Am hinteren Ende ist die Raupe von einem Cocon en miniature umgeben.

Die von der Kornmotte angegriffenen Weizenkörner keimer nicht mehr; wie sich diesbezüglich die Maiskörner verhalten, ist zweifelhaft. Jedenfalls könnte die Raupe in dem ausgesäeten Korne weiter leben; gesundes Aussaatmaterial ist daher unbedingt erforderlich. Nach der Entkörnung der Maiskolben bringt man die Körner zwekmäßig unter Wasser und beseitigt die nicht untersinkenden. In größeren Betrieben kann man auch schweflige Säure oder Schwefelkohlenstoff anwenden und nachher den Trieur einwirken lassen. L. Hiltner (Tharand).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Schloßmann, A., Ueber die Eiweißstoffe der Milch und die Methode ihrer Trennung. (Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie. Bd. XXII. 1896. p. 197.)

Von den in der Milch (Frauen-, Ziegen-, Schweine-, Esel- und Kuhmilch) enthaltenen Eiweißstoffen kann man drei Arten unterscheiden: das für die Milch charakteristische Kaseïn, das Lactalbumin und das Globulin. Die Trennung der Eiweißkörper der Milch konnte bis jetzt auf drei Wegen angestrebt werden. Die erste und älteste Methode ist die von Hoppe-Seyler, welche aber recht kompliziert und mit verschiedenen Mängeln behaftet ist. Bei dieser Methode wird bekanntlich als zur Ausfällung des Kaseïns wirksames Prinzip eine Säure angewendet. Das Prinzip der zweiten Methode, welche von Tolmatscheff ausgearbeitet wurde, gründet sich auf der Eigenschaft des Kaseïns, aus seinen „Lösungen" auszufallen, wenn dieselben mit einem Neutralsalz übersättigt werden. Diese Methode, welche auch von Hoppe-Seyler immer vertreten wurde, ergiebt keine brauchbaren Resultate und ist in ihrer Ausführung viel zu zeitraubend. Die dritte in Betracht kommende Trennungsart des Kaseïns von Albumin wurde durch die Arbeiten Lehmann's in den Vordergrund des Interesses gerückt. Es wird hierbei von einer Eigenschaft poröser Thonkörper Nutzen gezogen, die darin besteht, daß sie das Kasein zurückhalten, während sie das Albumin durchsickern lassen. Ob sich das Globulin hierbei zum Kaseïn oder zum Albumin hält, geht aus den Arbeiten Lehmann's nicht hervor. Nach seinen Untersuchungen verhält sich aber das Kaseïn zu Albumin in der Frauenmilch wie 12 : 5, in der Kuhmilch wie 10 : 1, d. h. auf jedes Gramm in der Frauenmilch konsumiertes Kaseïn kommt $4^2/_5$ mal so

viel Albumin als bei der Ernährung mit Kuhmilch. Um den Unterschied, der bei Verdünnung mit Wasser, das doch der Kuhmilch zugesetzt werden muß, noch eklatanter wird, zu parallelisieren, hat Lehmann den Zusatz eines anderen Albuminkörpers in löslicher Form, und zwar den des Hühnereies, anempfohlen. Somit gebührt Lehmann das Verdienst, als erster auf die Bedeutung gerade des Albumins für die Säuglingsernährung hingewiesen und auch bereits einen diesbezüglichen Verbesserungsvorschlag für die zumeist angewandte Kuhmilch gemacht zu haben. Die Verwendung von Thonseparatoren, besonders in der von Lehmann empfohlenen Form, gestattet wohl eine exakte Fraktionierung der Eiweißstoffe der Milch, doch bedarf es hierzu einer größeren manuellen Fertigkeit und auch einer nicht unbeträchtlichen Zeit, infolgedessen diese Methode für die Praxis wenig zu empfehlen ist. Verf. empfiehlt dagegen eine Methode, die ebenso einfach als rasch zu beendigen ist und dabei völlig zuverlässige Resultate giebt. Dieselbe beruht auf der Eigenschaft des Kaseïns, mit Alaun eine schwer lösliche Verbindung einzugehen, ohne daß das Albumin oder Globulin hierbei irgendwie beeinträchtigt oder beeinflußt würden und wird in folgender Weise durchgeführt: Man verdünnt 10 ccm Milch mit 3—5 Teilen Wasser, erwärmt vorsichtig auf 40° C und setzt alsdann 1 ccm einer konzentrierten Kalialaunlösung unter Umrühren zu, wobei eine mittelflockige Koagulation und rasches Absetzen der Koagula erfolgt. Ist dies nicht der Fall, so setzt man solange $^1/_2$ ccm der Alaunlösung zu, bis genügende Koagulation eintritt, wobei ein kleiner Ueberschuß der Alaunlösung (bis 1 ccm) nichts schadet. Hierauf wird das Kaseïn abfiltriert und im Soxhlet'schen Apparat entfettet. Der entfettete Rückstand wird nach Kjeldahl verbrannt und der so gefundene Stickstoff auf Kaseïn umgerechnet. Das Filtrat wird mit 10 ccm Tanninlösung versetzt, der entstehende Niederschlag abfiltriert und nach 3-maligem Waschen mit Wasser ebenfalls nach Kjeldahl verbrannt. Der gefundene Stickstoff wird als Stickstoff des löslichen Eiweißes aufgefaßt (Albumin und Globulin) und entsprechend umgerechnet. Dabei soll man nie verabsäumen, 10 ccm derselben Milch direkt zu verbrennen, um den Gesamtstickstoff als leichtes Kontrollmittel für die Analyse zu gewinnen.

Stift (Wien).

Lüpke, Das verbesserte Cathcart-Mikrotom. (Deutsche tierärztliche Wochenschrift. 1896. No. 6.)

L. hat vor fast $2^1/_2$ Jahren einige Verbesserungen an dem aus England in den Handel gebrachten Cathcart-Mikrotom angebracht und so dazu beigetragen, dieses Instrument in die Schlachthäuser und auch bei den Praktikern einzuführen. Das Mikrotom wird an der Tischkante durch eine Schraube befestigt, eine sehr genau gearbeitete Mikrometerschraube besorgt die Hebung des Objektes und das hobelartige Messer wird auf Glasleisten mit der Hand in einem Winkel von 15—20° über das Präparat hinweggeführt. Eine Gefriervorrichtung ist auch dem Apparate beigegeben, außerdem ein Cylinder zum Einklemmen von aufgeklebten eingebetteten Präparaten, so daß den weitgehendsten Ansprüchen gedient ist. L. hat nun zur Seite der

Glasleisten noch 2 mm hohe Metallplatten anbringen lassen, um ein Ausgleiten des Messers unmöglich zu machen. Dieselben können aber auch abgeschraubt werden, ebenso wie die Glasleisten, welche nach längerem Gebrauch doch etwas leiden, so daß ein Ersatz angebracht erscheint. Jeder Besitzer kann diese Manipulationen selbst vornehmen und sich sein Instrument wieder in den Gang setzen. Die Mikrometerschraube hat eine Ganghöhe von 0,5 mm; der Schraubenkopf ist in 50 Teile geteilt, so daß jede Drehung von einem Teilstrich zum anderen einer Schnittstärke von 10 μ entspricht. Ferner sind die Schraubenspindeln und die Cylinderhülse stärker gemacht und das Aethergefäß vergrößert, so daß selbst bei längerem Arbeiten keine so häufige Nachfüllung notwendig ist wie früher. Der Preis von 38 M. für dieses praktische Instrument, welches auch patentamtlich geschützt ist und von dem Mechaniker Herrn Erbe, Tübingen, angefertigt wird, ist durch diese kleinen Verbesserungen nicht erhöht worden. Deupser (Deutsch-Lissa).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Lodeman, E. G., Methods of Treating Greenhouse Pests.

Verf. beschreibt das Räuchern mit Tabak, auch wird Karbonbisulphid für mit Milben infizierte Pflanzen empfohlen, welche in engem Raume abgegrenzt werden können. Auch werden Versuche mit dem Gebrauche von Hydrocyangas und mit Schwefel beschrieben.

Atkinson (Ithaca, N. Y., U. S. A.).

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Prof. Dr. M. W. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

II. Band. Jena, den 30. November 1896. **No. 21.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige ***Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original-Mittheilungen.

Untersuchungen über das Anpassungsvermögen von Bacillus radicicola an einen fremden Nährboden.

Von

A. Stutzer (Ref.), **R. Burri** und **R. Maul** [1]).

Nach unseren heutigen Kenntnissen über die Eigenschaften des Bacillus der Leguminoseknöllchen müssen wir annehmen, daß derselbe im Erdboden ziemlich allgemein vorkommt und ein Anpassungsvermögen an ganz bestimmte, in dem betreffenden Boden kultivierte

1) Mitteilung der landwirtschaftlichen Versuchsstation in Bonn.

Leguminosearten besitzt. Nobbe und Hiltner haben neulich hierüber sehr interessante Kulturversuche veröffentlicht[1]).

Vermutlich wird das Anpassungsvermögen nicht nur für die betreffenden lebenden Pflanzen Giltigkeit haben, sondern wahrscheinlich auch bezüglich künstlicher Nährböden mehr oder weniger stark in der Weise zum Ausdruck kommen können, daß z. B. die aus Lupinenknöllchen gezüchteten Bakterien vorzugsweise auf einem aus der Lupinenpflanze bereiteten künstlichen Nährboden gut gedeihen. Wir haben die diesbezüglichen Verhältnisse nicht näher geprüft, sondern sind gleich einen Schritt weiter gegangen, indem wir die Knöllchenbakterien auf einem Nährboden zu kultivieren versuchten, zu dessen Herstellung irgend welche Teile einer Leguminose keine Verwendung fanden.

Wir stellten die Frage: Können die Knöllchenbakterien der Luzerne auf einem Nährboden wachsen, welcher aus weißem Senf bereitet ist?

Gegen Ende Oktober 1894 wurden kräftige, einjährige Luzernepflanzen vom Felde genommen. Sie hatten zahlreiche Knöllchen, meist von länglich-birnförmiger Gestalt, oft mit Einschnürungen versehen, bisweilen waren sie handförmig verbreitert. Die Knöllchen wurden längere Zeit mit Wasser, dann mit Sublimatlösung (1 : 1000) und zuletzt mit sterilem Wasser abgespült und feucht in eine sterilisierte Petri'sche Doppelschale gelegt. Nachdem wir eine Anzahl guter Knöllchen in dieser Weise gereinigt hatten, wurden die Knöllchen mittels eines sterilen Messers der Länge nach durchschnitten, von der feuchten Schnittfläche, und zwar von der Mitte derselben, mit einer sterilen Platinnadel wenig Flüssigkeit entnommen und damit Striche auf einem schräg erstarrten Nährboden gemacht, dessen Herstellung aus Luzerne nachstehend beschrieben wird. Keine der 6 Strichkulturen erwies sich später als verunreinigt und gelangten nur Knöllchenbakterien zur Entwickelung.

In den ersten 3 Tagen war kein Wachstum zu bemerken, am 4. Tage bilden sich stellenweise weiße Schleimtröpfchen, dann nahm das Wachstum dem Strich entlang schnell zu. Die schleimig-glänzenden Auflagerungen haben eine zähflüssige Beschaffenheit, und allmählich bildet sich eine Rinne in dem Nährboden, indem dieser an den Berührungsstellen mit den Bakterien langsam sich verflüssigt.

Die Herstellung des Nährbodens aus Luzerne.

400 g grüne Luzernepflanzen, ohne Wurzeln, wurden in einem sehr großen Becherglase mit 1 Liter Wasser übergossen und nach Zugabe von 20 g Traubenzucker $1\,^1/_2$ Stunden lang im strömenden Dampf auf 100° C erwärmt. Alsdann ist die Flüssigkeit filtriert, mit 100 g Gelatine versetzt und in gewöhnlicher Weise ein steriler Nährboden daraus hergestellt. Der Nährboden wurde nicht neutralisiert, sondern die Säure durch Zugabe von 1 g Natriumkarbonat nur etwas abgestumpft. Von der schwach sauer reagierenden Flüssigkeit sind je 8 ccm in Reagensgläser abgefüllt.

1) Siehe Referat auf p. 650.

Die Herstellung eines Nährbodens aus weißem Senf.

Frische Senfpflanzen standen uns zur Zeit des Beginnes der Versuchsanstellung nicht zur Verfügung. Wir ließen Samen von weißem Senf bei 30° C 3 Tage lang keimen. Ein großer Teil der Samen hatte in dieser Zeit 1—1½ cm lange Würzelchen gebildet, während manche Samen nur erst eine weiße Keimspitze zeigten. Von dieser angekeimten Masse haben wir 400 g in ein großes Becherglas gebracht, mit 1 Liter Wasser übergossen und 2 Stunden lang im strömenden Dampfe auf 100° C erhitzt. Die Flüssigkeit ist heiß filtriert. Das Filtrat war sofort völlig klar. Hiervon sind 500 ccm mit der gleichen Menge Wassers verdünnt, 20 g Traubenzucker und 100 g Gelatine darin gelöst und die Mischung in üblicher Weise weiter verarbeitet. Die Flüssigkeit wurde nicht neutralisiert, sondern die Säure nur teilweise abgestumpft. Der Nährboden blieb schwach sauer.

Das Verhalten der Knöllchenbakterien zu den beiden Nährböden.

Auf dem Luzernenährboden entwickelten sich die Kulturen vorzüglich gut. Bei der Beobachtung einer 8 Tage alten Strichkultur waren im hängenden Tropfen einzelne Stäbchen langsam beweglich. Nach der Färbung mit verdünntem Karbolfuchsin zeigten die meisten Stäbchen einen ungefärbten Fleck, meist kreisrund, oft seitlich zusammengedrückt.

Am 12. Tage wurden von den 6 Originalkulturen, welche während dieser Zeit in einem dunklen Schranke bei 15—20° C gestanden hatten, die 3 am üppigsten entwickelten Kulturen zu einer parallelen Fortzüchtung ausgewählt und Tochterkulturen (als Striche) sowohl auf Luzerne-, wie auch auf Senfnährboden angelegt. Am 4. Tage zeigten sämtliche Kulturen, auch diejenigen auf Senfnährboden, üppiges Wachstum.

Nach Verlauf von 11 Tagen werden die Tochterkulturen weiter verimpft. Die Luzernekulturen gediehen vortrefflich, diejenigen des Senfnährbodens entwickelten sich langsamer. Nach abermals 30 Tagen legten wir dritte Tochterkulturen an. Der Strich auf dem Luzernenährboden hatte ein normales, üppiges Ansehen, die Lebensenergie der Senfbodenbakterien nahm dagegen ganz bedeutend ab und sind die letzteren nach weiteren 25 Tagen so schwach entwickelt, daß wir die Fortzüchtung dieser Bakterien auf reinem Senfnährboden aufgeben mußten.

Wir legten uns nun die Frage vor, kann vielleicht eine ganz allmähliche Anpassung an den Senfnährboden stattfinden? Zu diesem Zwecke bereiteten wir uns Mischungen beider Nährböden, mit steigenden Mengen an Senf, und zwar enthielt die Mischung neben dem Luzernenährboden 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 Proz. Senfnährboden, bis wir schließlich zu dem reinen Senfnährboden gelangten.

Von den Mischungen wurden je 8 ccm in Reagensgläschen gebracht und an drei aufeinanderfolgenden Tagen je 8 Minuten lang in

Dampf sterilisiert. Wir ließen den Nährboden schräg erstarren und machten am 16. Jan. 1895 zunächst von den guten Luzernekulturen Uebertragungen auf die Mischung mit 5-proz. Senf. Die Entwickelung der Bakterien war eine vorzüglich gute. Die Weiterimpfung auf die Nährböden mit höherem Senfgehalt geschah in Zwischenräumen von 2—3 Wochen und gelangten wir am 16. Juli zu der Kultur auf reinem Senfnährboden. Von da ab haben die weiteren Uebertragungen auf reinen Senfnährboden ein halbes Jahr lang monatlich stattgefunden, ohne daß die Bakterien in ihrer Lebensenergie geschwächt wurden, sie hatten sich jetzt den neuen Ernährungsbedingungen vollkommen anpepaßt.

Die mikroskopische Untersuchung ergab, im Vergleich zu den nur auf Luzerneboden gewachsenen Kulturen, keine abweichenden morphologischen Eigenschaften.

Sodann sind die Senfkulturen auf reinen Luzernenährboden zurückübertragen, von dem wir uns bei Einleitung der Versuche eine größere Menge hergestellt und in luftdicht schließenden Flaschen aufbewahrt hatten. Wir glaubten, das Anpassungsvermögen an den Senfnährboden könnte jetzt vielleicht so groß geworden sein, daß die Bakterien allmählich an den alten Luzernenährboden wieder gewöhnt werden müßten. Indes erwies sich diese Annahme als irrig, die Bakterien zeigten sofort ein sehr üppiges Wachstum, ohne daß solches nach den weiteren Uebertragungen auf reinen Luzernenährboden, also in den Tochterkulturen, irgendwie beeinträchtigt worden wäre.

Diese Versuche dürften ein Beweis für die hohe Anpassungsfähigkeit des Bacillus radicicola an andere Ernährungsbedingungen sein.

Kurz wollen wir noch einige Untersuchungen erwähnen, von denen wir uns einen negativen Erfolg versprachen, die wir aber trotzdem in Hinblick auf gewisse Annahmen von G. Liebscher[1]) ausführten, welcher zunächst behauptete, daß der weiße Senf zu den stickstoffsammelnden Pflanzen gehöre und später, daß die im Boden verbleibenden Knöllchenbakterien, auch ohne Symbiose mit Leguminosen, Stickstoff aus der Luft aufnehmen können.

Samen von weißem Senf wurden in sterilisierten weißen Quarzsand eingesät, der Sand mit einer stickstofffreien Nährlösung begossen und mit den auf reinem Senfnährboden in der vorhin angegebenen Weise kultivierten Bakterien geimpft. Bei einer zweiten Versuchsreihe gaben wir keine Bakterien, bei einer dritten ebenfalls keine Bakterien, aber stickstoffhaltige Nährlösung. Begossen wurde später mit reinem destilliertem Wasser. Das Ergebnis bestand darin, daß die verwendeten Bakterien die Senfpflanze nicht mit Stickstoffnahrung zu versorgen vermochten. Allerdings gelangten hin und wieder in einigen Töpfen die Pflanzen zur Entwickelung, die nähere Untersuchung ergab dann aber, daß es nicht möglich gewesen war, die Bildung von Algen in dem betreffenden Boden zu hindern.

Weitere Versuche betrafen das etwaige Aufnahmevermögen der Bakterien für atmosphärischen Stickstoff bei Ausschluß chlorophyll-

---

1) Centralbl. für Bakteriol. II. Abt. Jahrg. I. p. 73.

führender Pflanzen. Wir suchten festzustellen, ob die Knöllchenbakterien, ohne Verbindung mit höheren Pflanzen, nennenswerte Mengen von freiem Stickstoff in gebundener Form überführen. Auch von diesen Versuchen versprachen wir uns nicht den geringsten Erfolg, zumal es zu einer wirklichen Bakteroidenbildung voraussichtlich nicht kommen konnte, und führten die Versuche ebenfalls nur mit Rücksicht auf die Behauptungen von Liebscher aus. Wir boten den Knöllchenbakterien die nötigen Mineralsubstanzen und den Kohlenstoff in Form von Traubenzucker dar. Gebundener Stickstoff wurde nicht gegeben. Die Nährlösung enthielt im Liter: 1 g phosphorsaures Kali; 0,5 g schwefelsaures Magnesia, 1 g Chlornatrium, 0,1 g Chlorkalcium und 20 g Traubenzucker.

In große Flaschen von 2 Liter Rauminhalt wurden 10 g ausgeglühter langfaseriger Asbest, 25 ccm der Nährlösung, 25 ccm steriles Wasser, 2 ccm einer Bakterienaufschwemmung eingebracht, letztere war hergestellt, indem eine große Platinöse voll von einer Gelatinestrichkultur in 100 ccm sterilen Wassers verteilt wurde. Das Gemenge von Asbest, Nährlösung und Wasser ist in der Flasche nochmals sterilisiert, dann die Impfung vorgenommen und die Flaschen durch Wattestopfen geschlossen. Der Asbest diente zur vollständigen Aufsaugung der Flüssigkeit, um diese auf eine größere Oberfläche zu verteilen. Die sich etwa entwickelnden Bakterien hatten nun atmosphärischen Stickstoff in reichlichem Maße zur Verfügung.

Als Impfmaterial dienten Luzerneknöllchenbakterien und zwar:

a) Bakterien, welche, wie vorhin angegeben, längere Zeit auf reinem Senfnährboden gewachsen waren;

b) Bakterien in gleicher Weise auf Luzernenährboden längere Zeit kultiviert;

c) Bakterien aus frischen Luzerneknöllchen direkt übertragen;

d) war ein blinder Versuch ohne Bakterien.

Die geimpften Gefäße blieben 2 Monate lang in einem dunklen, auf 28—30° C erwärmten Schranke stehen, dann wurde der gesamte Inhalt der Gefäße mit Schwefelsäure gekocht und zur Bestimmung des Stickstoffes nach Kjeldahl verwendet. Gefunden ist bei:

a)	0,00767 g N.	b)	0,00642 g N.
	0,00632 „ „		0,00552 „ „
Mittel	0,00699 g N.	Mittel	0,00597 g N.
c)	0,00337 g N.	d)	0,00337 g N.
	0,00316 „ „		0,00411 „ „
Mittel	0,00326 g N.	Mittel	0,00374 g N.

Die Unterschiede, im Vergleich zu den blinden Versuchen, sind so außerordentlich gering, daß von einer Stickstoffaufnahme der Bakterien unter den gewählten Versuchsbedingungen keine Rede sein kann.

Ueber die Denitrifikation.

[Chemisches Laboratorium der Universität und bakteriologisches Laboratorium des Königlichen Gesundheitsamtes in Rom.]

Von

Dr. G. Ampola und Dr. E. Garino

in

Rom.

Mit 1 Figur.

Die energische Oxydation der organischen und mineralischen Stickstoffverbindungen, welche sich im Erdboden befinden, ist seit mehreren Jahren Gegenstand unermüdlichen Studiums von seiten der Chemiker und Bakteriologen gewesen. Man hatte versucht, diese Nitrifikation genannte Erscheinung durch einfache, chemische Vorgänge zu erklären; um jedoch auf solche Weise die Umwandlung der Stickstoffverbindungen in Salpetersäure zu erhalten, sind entweder sehr hohe Temperaturen oder energische Reaktionen erforderlich, welche bei den sich im Erdboden vollziehenden Oxydationserscheinungen sicherlich nicht vorkommen.

Nachdem Pasteur nachgewiesen hatte, daß die Mikroorganismen einen wesentlichen Anteil an der Umwandlung der Materie haben, ist es mehreren Forschern gelungen, die experimentellen Beweise dafür beizubringen, daß die Nitrifikation sich ebenfalls vermittelst der Einwirkung mikroskopischer Keime vollzieht, welche sich in allen pflanzenstoffhaltigen Erden befinden und darauf hinarbeiten, die verschiedenen komplexen organischen Substanzen zu zerstören, indem sie auf Kosten der stickstoffhaltigen Substanzen Nitrate bilden, unter der Voraussetzung, daß günstige Feuchtigkeits- und Temperaturbedingungen gegeben sind und daß atmosphärischer Sauerstoff gegenwärtig ist.

Winogradsky[1]) ist es in seinen klassischen Experimenten gelungen, die Nitrifikationsagentien zu isolieren und nachzuweisen, daß der Ammoniakstickstoff sich in einer früheren Periode in salpetrigen Stickstoff und später in Salpeterstickstoff verwandelt.

Aber wenn im Erdboden Mikroorganismen existieren, die imstande sind, den Stickstoff in eine von den Pflanzen assimilierbare Form zu bringen, so giebt es wiederum andere, welche denselben aus dem gebundenen in den freien Zustand übergehen lassen.

Ferner findet im Erdboden, in organischen Stickstoffmaterien (Dünger etc.) ein Vorgang nicht mehr von Oxydation, sondern von Reduktion des Stickstoffes statt, so daß dieser von den mit ihm zusammengesetzten Substanzen befreit wird.

Wir verdanken Wagner höchst wichtige Untersuchungen über diesen Gegenstand der Denitrifikation. Indem er bestimmte Quan-

1) Winogradsky, Recherches sur les organismes de la nitrification. (Annales de l'Institut Pasteur. Tom. IV. 1890.)

titäten Pferdemist in einer gegebenen Lösung von Natriumnitrat in gewöhnliches Wasser legte, nahm er wahr, daß dasselbe sich nach wenigen Tagen verminderte und am Ende ganz verschwand.

Wagner hat jedoch nicht festgestellt, welcher Art von Keimen die Agentien dieser überaus wichtigen Erscheinung angehören.

Im Anschluß an die Untersuchungen Wagner's haben Burri und Stutzer[1]) aus dem Pferdemist zwei Arten von Bakterien isoliert, welche in der Symbiose die Eigenschaft besitzen, Salpetersäure bis auf freien Stickstoff zu reduzieren. Die eine dieser Arten ist das in der Natur sehr verbreitete Bacterium coli, die andere wird von einem neuen Keime vertreten, dem sie den Namen B. denitrificans I beigelegt haben. Dieselben Forscher haben ferner aus altem Stroh einer Flasche ein anderes Bakterium isoliert, welches zum Unterschied von den ersteren die Fähigkeit hat, für sich allein die Nitrate bis zu freiem Stickstoff zu reduzieren und diesem haben sie den Namen B. denitrificans II gegeben.

Die Reduktion der Salpetersäure in freien Stickstoff ist also, wie man sieht, keine einer einzigen Bakterienart vorbehaltene Eigenschaft. Der Zweck unserer Arbeit war demnach, zu sehen, ob die Erscheinung der Denitrifikation außer beim Pferdemist auch bei demjenigen des Rindviehes vorkomme und ob es möglich sei, andere als die von Burri und Stutzer beschriebenen Keime zu isolieren.

Indem wir, wie es Burri und Stutzer gethan haben, die Versuche Wagner's wiederholten, haben wir Leitungswasser (Acqua Felice), Rindermist und Natriumnitrat in Erlenmeyer'sche Gläser in folgenden Verhältnissen eingeführt:

Wasser 100 g
Mist 5 g
$NaNO_3$ 0,32 g

Diese bei einem Wärmestand von 30° gehaltene Mischung zeigte nach 24 Stunden Bläschen, welche, vom Boden aufsteigend, sich an der Oberfläche zu einem von großen und kleinen Blasen gebildeten Schaum von mehr als 2 ccm Höhe ansammelten. Dieser Schaum ist, wie aus Burri's und Stutzer's Versuchen hervorgeht, ein sicheres Anzeichen für die in der Flüssigkeit eingetretene Gärung. Bei den zahlreichen, von uns angestellten Experimenten haben wir immer feststellen können, daß, sobald keine Blasen mehr vom Boden aufstiegen, die Zerstörung des Nitrats vollzogen war. Diese Versuche haben wir wiederholt, immer zu denselben Resultaten, d. h. der Zerstörung des Nitrats, gelangend, indem wir dem Leitungswasser (Acqua Felice) sterilisiertes, längere Zeit gekochtes Wasser substituierten.

Diese Versuche Wagner's, mit denen wir unsere Experimente begonnen haben, bevor wir zu den Isolierungsmaßregeln schritten, haben uns das Mittel an die Hand gegeben, die beständige Gegenwart

---

1) Burri und Stutzer, Ueber nitratzerstörende Bakterien und den durch dieselben bedingten Stickstoffverlust. (Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde. Zweite Abteilung. 1895.)

von denitrifizierenden Keimen im Rindermist feststellen zu können. Denn bei mehr als 50 von verschiedenen Tieren entnommenen Proben hat sich uns die Zerstörung des Nitrats ergeben, so oft wir uns strenge an die experimentellen Bedingungen gehalten haben. In der That haben wir in den ersten Versuchen, die wir zu dem alleinigen Zweck angestellt hatten, um zu sehen, ob die Reduktion der Nitrate stattfand oder nicht, von der skrupulösen Beobachtung der festgestellten Proportionen:

Wasser 100 g
Mist 5 g
$NaNO_3$ 0,32 g

absehen zu können geglaubt, indem wir uns darauf beschränkten, eine Mischung in ganz allgemeinen Verhältnissen herzustellen und auf den Wärmegrad zu bringen. In allen diesen Fällen ist entweder die Gärung ausgeblieben oder die Erscheinung hat sich in höchst unregelmäßiger und unvollständiger Weise vollzogen. So oft wir dagegen die Mischungen genau in den oben angegebenen Proportionen herstellten, haben wir die Zerstörung des Nitrates auch bei denjenigen Arten von Rindermist erhalten, welche vorher gar keine Gärung hervorgebracht hatten.

Das Gas, welches sich bei diesen Versuchen entwickelte, und von uns in einer Glocke auf gekochtem Wasser gesammelt wurde, war nicht nur N. In der That, 38 ccm desselben, bei einer Temperatur von 28° und einem Druck von 754,60 gesammelt, reduzierten sich auf 25,8 nach der Absorption der CO_2 mit Kaliumhydrat und blieben dann unverändert mit Natriumpyrogallat. Die Gegenwart von CO_2 wurde auch mit Barytwasser festgestellt.

Wir haben dafür Sorge getragen, in den Recipienten einige der Gärungsprodukte qualitativ zu prüfen, sowohl während der Zeit, wo die Erscheinung stattfand, als auch nachdem dieselbe sich vollzogen hatte. Wir haben die Gegenwart der Nitrate mit der Reaktion von E. Kopp, d. h. mit Diphenylaminsulfat gesucht, diejenige der Nitrite mit der Reaktion von Griess, mit Sulfanilsäure und Naphtylaminsulfat, das Ammoniak mit dem Nessler'schen Reagens[1]).

In allen von uns angestellten Versuchen haben wir immer die intermediären Produkte der Reduktion von Salpetersäure in Stickstoff, d. h. salpetrige Säure und Ammoniak angetroffen. Etwa nach Ablauf eines Monates fand sich in der Wagner'schen Flüssigkeit keine Spur von Nitrat mehr vor.

Nachdem wir die Erscheinung und ihre beständige Wiederkehr bei Anwendung des Rindermistes erkannt hatten, sind wir zur Isolierung der Denitrifikationskeime an der Hand der Arbeiten von Burri und Stutzer übergegangen.

In die Kulturbouillon Löffler's haben wir 0,32 Proz. $NaNO_3$ hinzugefügt. Wurde ein einziger Tropfen des Materials, welches in den für die Wagner'schen Versuche angewendeten Recipienten ent-

1) Wenn die Versuche mit dem Nessler'schen Reagens in Cylindern mit Bouillon gemacht wurden, trugen wir Sorge dafür, nicht in Gegenwart von KOH zu erhitzen, weil dieses NH_3 aus den Eiweißverbindungen freigemacht hätte.

halten war, in die Bouillon übertragen, so rief derselbe nach etwa 24 Stunden eine Trübung hervor und erzeugte nach 2, 5, 4 und mehr Tagen die Entwickelung von Gas mit feinen Bläschen, die sich an der Oberfläche festsetzten und in einem weißen Schaum anhäuften. Hatte die Erscheinung ihren höchsten Grad von Intensität erreicht, so machten wir eine Uebertragung in andere Cylinder, welche ihrerseits dieselben Erscheinungen aufwiesen.

Wir dürfen nicht unerwähnt lassen, daß bei den ersten Uebertragungen, d. h. als sich in der Kulturflüssigkeit jedenfalls eine beträchtliche Anzahl von Bakterienarten befand, die Schaumbildung sich nicht mit großer Regelmäßigkeit vollzog, denn wir haben den Schaum häufig erst nach 4, 6, 8 und auch 10 Tagen auftreten sehen.

Je nachdem nun die Kulturen vermittelst der weiteren Uebertragungen mehr und mehr gereinigt wurden, trat der Schaum in immer kürzeren Zwischenräumen auf. So sind wir dahin gelangt, denselben regelmäßig nach 24—30 Stunden bei der 8. oder 9. Uebertragung erscheinen zu sehen. An diesem Punkt angelangt, haben wir uns durch die mikroskopische Untersuchung davon überzeugt, daß wir es mit einem Keime in Reinkultur zu thun hatten. In der That erhielten wir, nachdem wir ein wenig Bouillon in den nach der Koch'schen Methode hergerichteten Gelatineplatten (Gelatine mit 0,30 Proz. von $NaNo_3$) kultiviert hatten, die Entwickelung von Kolonieen, welche alle dasselbe Aussehen trugen. Die von diesen Kolonieen in natriumnitrathaltige Bouillon gemachten Uebertragungen hatten die charakteristische Entwickelung der Gasblasen an der Oberfläche der Flüssigkeit zur Folge.

Es ist uns auf diese Weise gelungen, die Entwickelung von einem Keime in Reinkultur zu erhalten, dessen charakteristische Eigentümlichkeiten folgende sind:

Morphologische Eigentümlichkeiten. Er ist ein Organismus in der Form eines sehr kleinen Stäbchens, 1—1,5 μ lang und 0,1—0,3 μ breit. In jungen Bouillonkulturen zeigte er die Fähigkeit einer lebhaften Bewegung, die er den 8—10 und mehr langen und dünnen Geißeln verdankt, die sich an den Seiten und Enden des Stäbchens befinden. Diese Geißeln werden nach der Löffler-schen, von Nicolle und Morax modifizierten Methode durch Färbung sichtbar.

Wegen dieser außerordentlichen Beweglichkeit, die allein genügen würde, unseren Keim vor den von Burri und Stutzer isolierten auszuzeichnen, scheint es uns passend, diesem Bakterium den Namen „Bacillus denitrificans agilis" beizulegen.

Er zeigt keine Tendenz zu Faserbildung; auch ist es uns nicht gelungen, Sporenbildung bei ihm nachzuweisen.

Färbungseigentümlichkeiten. Der Bacillus färbt sich leicht nach einfacher Methode in Berührung mit hydroalkoholischen Lösungen basischer Anilinfarben. Unterwirft man ihn der Gram'schen Behandlung, so behält er irgendwelche Färbung nicht.

Kulturelle Eigenschaften. Er ist anaërob fakultativ und entwickelt sich bei 18—20°, aber sein Optimum liegt bei 36°. Er

giebt den Nährmitteln, welchen Salpetersäure beigefügt ist, den Vorzug.

Kulturen auf Gelatineplatten. Er entwickelt sich auf denselben langsam: nach 48—72 Stunden bildet er kleine Kolonieen von 150—170 μ im Durchmesser mit abgerundeten, scharfen Grenzen mit einem feinkörnigen Inhalt von hellgelber Farbe. Er verflüssigt die Gelatine nicht. Fügt man zur Gelatine Salpetersäure hinzu, so umgeben sich einige Kolonieen mit einer Gasblase.

Strichkultur in Gelatine. Spärliche Entwickelung. Weist keine charakteristischen Merkmale auf.

Stichkultur in Gelatine. Längs des ganzen Stiches bildet sich ein feiner, weißer Streifen, der in den tieferen Teilen des Stiches weniger hervortritt. In der mit Salpetersäure vermischten Gelatine ist die Entwickelung reichlicher; es findet Bildung von Bläschen statt, welche die Gelatine an verschiedenen Punkten spalten.

Strichkultur in Agar. Entwickelt sich längs des Striches in Form eines schmutzig-weißen Streifens, der an Ausdehnung zunimmt.

Stichkultur in Agar. Spärliche Entwickelung längs des Stiches. An der Oberfläche bildet sich ein dünner Ueberzug, der sie schnell ganz bedeckt und einnimmt. Bei Agar mit 2 Proz. Glukose trägt die Entwickelung dieselben Charakterzüge an sich, ist jedoch reichlicher. In Agar mit Salpetersäure ist die Entwickelung üppig; es bilden sich in der Masse Blasen und schließlich wird der Agar vom Gas gespalten.

Bouillonkultur. Zu Anfang trübt sich die Masse der Loeffler'schen Bouillon überall. Nach einigen Tagen bilden die Keime einen Bodensatz in Form einer faserigen, weißlichen Masse, während der obere Teil der Flüssigkeit sich wieder abklärt. In Bouillon mit Salpetersäure ist die Entwickelung bei weitem reichlicher und nach 18—24 Stunden findet die Bildung von Schaum mit sehr feinen Bläschen statt. Die Reaktion der Bouillon bleibt alkalisch und bildet kein Indol.

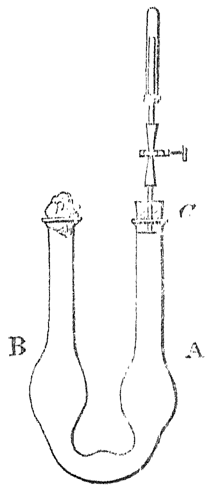
Kartoffelkultur. Auf den von Natur sauren sowie auf den mit einer Lösung in 0,5 Proz. von Natriumkarbonat geht die Entwickelung sehr langsam und wenig reichlich vor sich. Es bildet sich ein dünner Ueberzug von gelber, schmutzig-brauner Farbe.

Krankheiterregendes Vermögen. Wir haben 1 ccm vierundzwanzigstündiger Bouillonkultur verschiedenen Tieren, nämlich Meerschweinchen, Kaninchen, Tauben und Mäusen subkutan eingeimpft. Keines derselben hat aber irgendwelche Anzeichen von Erkrankung dargeboten mit Ausnahme der Mehrschweinchen, bei denen sich eine gewisse lokale, Reaktion einstellte, die nachher allmählich verschwand.

Widerstandsvermögen. Ist für die Wirkung der Wärme sehr empfindlich. Eine Temperatur von 55 ° C tötet ihn nach 5 Minuten.

Nachdem wir das Bakterium in Reinkultur erhalten hatten, wollten wir auf chemischem Wege feststellen, ob das sich entwickelnde Gas nur Stickstoff sei, oder ob dieser mit CO_2 vermischt wäre, welches, w

angedeutet, gewonnen wird, wenn man den Denitrifikationsprozeß unter Einwirkung der zahlreichen im Rindermist befindlichen Bakterienarten studiert. Zu diesem Zwecke haben wir uns eines Apparates (s. die Abbildung) bedient, welcher uns erlaubte, das sich entwickelnde Gas aufzusammeln und uns zugleich gegen jegliche mögliche Verunreinigung des Inhaltes sicherstellte.



In ein U-Gefäß thaten wir nitrathaltige Bouillon, bis die Blasen auf beiden Seiten bis zu $^4/_5$ damit angefüllt waren. Nachdem der an beiden Enden mit baumwollenen Pfropfen verschlossene Apparat im Autoklaven bei 115° eine halbe Stunde lang sterilisiert war, brachten wir an einer der Mündungen einen Gummipfropfen *C* an, welcher von einem Cylinder durchbrochen ist, der sich oben in einen anderen von Caoutchouc und nachher in einen anderen Glascylinder fortsetzt. Auf diesem letzteren wurde mit ein wenig Baumwolle eine kleine Prouvette angebracht und befestigt. Der Pfropfen mit den verbundenen Teilen wurde im Autoklaven in einer großen Prouvette sterilisiert. Nachdem die Bouillon inokuliert war, indem wir durch den baumwollenen Pfropfen der Seite *B* Luft einbliesen, wurde die Flüssigkeit auf die Seite *A* getrieben, bis sie in dem von der kleinen Prouvette geschützten Cylinder zum Vorscheine kam. Dann wurde der Gummicylinder vermittelst einer Mohr'schen Zwinge geschlossen und der Apparat auf einen Wärmestand von 35—36° gebracht. Nach 18—24 Stunden trat eine reichliche Entwickelung von Gas ein, das sich in *A* ansammelte, während das Niveau der Flüssigkeit emporgetrieben wurde. Nachdem wir nun den Apparat von der kleinen Prouvette befreit hatten, setzten wir ihn mit einem Azotometer in Verbindung, in welchem wir das Gas untersuchten. In einem der Versuche ergaben sich 15 ccm Gas, die bei der Analyse folgendes Resultat aufwiesen:

ccm 13 N
„ 2 CO_2

bei einer Temperatur von 25° C und H_0 von 758,60. Wir vermochten also auch bei dem Bakterium in Reinkultur die Entwickelung von CO_2 im Verhältnis von ungefähr 15 Proz. des entwickelten Gases festzustellen.

Die Untersuchungen von Burri und Stutzer haben dargethan, daß die Alkalien und Säuren einen großen Einfluß auf die von ihnen isolierten denitrifizierenden Keime ausüben.

Wir haben es daher für zweckmäßig erachtet, festzustellen, wie sich unser B. denitrificans agilis zu diesen Substanzen verhielte. Die Versuche wurden mit Salzsäure, Schwefelsäure, Oxalsäure und Natriumkarbonat angestellt.

In 4 Cylindern, die ein jeder 5 ccm Bouillon mit Salpetersäure

enthielten, wurden bez. 1, 2, 3, 4, ccm der Lösung $\frac{N}{10}$ von HCl hinzugefügt. Denselben Versuch haben wir mit Schwefelsäure, Oxalsäure und Natriumkarbonat gemacht. Jedoch hat sich der eingeimpfte Bacillus in keinem der Cylinder entwickelt. Da uns diese Versuche davon überzeugt hatten, daß der von uns studierte Keim sehr empfindlich gegen die Wirkung der Säuren ist, so haben wir untersuchen wollen, ob im Torf, der ein organischer, stickstoffhaltiger und in geringem Grade saurer Dünger ist, die Erscheinung der Denitrifikation stattfindet. Wir behalten uns vor, die Resultate dieser Experimente so bald als möglich bekannt zu machen.

In dieser vorläufigen Mitteilung beschränken wir uns darauf, die hauptsächlichsten von uns beobachteten Thatsachen anzudeuten. Es liegt in unserer Absicht, diese Studien fortzusetzen, indem wir sie durch quantitative Analysen zu bekräftigen und zu erklären versuchen, wie der Stickstoff aus den mit ihm verbundenen Substanzen befreit wird, und namentlich, in welcher Weise das letzte Stadium der Reduktion des Ammoniaks in freien Stickstoff vor sich geht [1]).

Rom, Oktober 1896.

Haben die Röntgen'schen Strahlen irgendwelche Einwirkung auf Bakterien?

[Aus dem bakteriologischen Institute der Universität Bern.]

Von

Dr. J. Wittlin.

Die Resultate, die Mink (Münchener med. Wochenschrift. 1896. p. 101 und 202) bei seinen Versuchen mit Typhusbacillen erhielt, schienen mir einer Nachprüfung wert, die ich aber auch auf andere Mikroorganismen ausdehnte. Meine Versuche machte ich im Gegensatze zu den soeben besagten ausschließlich nur mit flüssigen Nährböden und ließ die Strahlen eine volle Stunde auf dieselben einwirken.

Zu den Versuchen habe ich mehrere pathogene Arten, überdies auch nicht pathogene, dafür aber eine sehr resistente Bacillenart mit Sporen gebraucht, und zwar folgende Bakterien:

Bacillus coli communis, Bacillus typhi, Diphtheriebacillen, Staphylococcus aureus, Spirochaeta cholerae, Tyrothrix tenuis Duclaux.

In Röhrchen von sehr dünnem Glase, die mit steriler 2-proz. Peptonbouillon halb gefüllt waren, impfte ich je eine Platinöse von

---

1) Herrn Dr. Achille Sclavo sprechen wir für den Beistand, den er uns im Verlaufe unserer Arbeit geleistet hat, unseren aufrichtigen Dank aus.

den oben beschriebenen Bakterienkulturen und hielt sie in dem Brütschranke bei 37° C.

Nachdem dieselben vollkommen entwickelt waren, wurde jedem Röhrchen je ein Tropfen der trüben Peptonbouillon entnommen, einem Röhrchen mit verflüssigter Gelatine beigefügt und zu einer Platte gegossen, um in den Brütschrank bei 22° C gestellt zu werden.

In einem Falle, nämlich beim Versuche mit Diphtheriebacillen, wurde statt der Gelatine Agar zum Gießen der Platte verwendet. Hierauf wurden die Röhrchen mit der Peptonbouillonkultur eine volle Stunde lang dem Einflusse der Strahlen nach Röntgen 15 cm vom Bogen der Focusröhre eines Induktionsapparates von 20 cm Funkenlänge in Luft eingesetzt.

Nach dem Experimente wurde von einem jeden der Röhrchen auf die vorher beschriebene Weise je eine Platte gegossen, damit den Zweck verfolgend, aus der Anzahl der auf jeder Platte gewachsenen Kolonieen festzustellen, ob die betreffende Bakterienspecies infolge der Einwirkung der Röntgenstrahlen eine Veränderung ihrer Zahl erfahren habe.

Nachdem sich die Kolonieen vollkommen entwickelt hatten, wurden die Platten, die vor dem Exponieren gegossen worden waren, mit denjenigen, die nach demselben verfertigt worden waren, verglichen, wobei sich Folgendes herausstellte: die Platten mit Bac. typhi, B. cholerae, Tyrothrix tenuis, Bac. diphtheriae zeigten ungefähr die gleiche Anzahl von Kolonieen, während bei Bac. coli und Staphylococcus eine größere Anzahl von Keimen auf den Platten, die nach dem Exponieren gegossen wurden, zu zählen war. Diese Vermehrung glaube ich dem Umstande zuschreiben zu müssen, daß zwischen dem Gießen der ersten und zweiten Platte 2 volle Stunden verstrichen waren, während welcher Zeit sich die Keime um eine beträchtliche Zahl vermehrt haben mögen.

Anschließend an diese Versuche möchte ich noch beifügen, daß ich außer den 6 Bouillonröhrchen, welche mit je einer Bakteriengattung geimpft waren, noch ein vollkommen steriles Bouillonröhrchen die gleiche Zeit wie die anderen, also ebenfalls eine volle Stunde, den Röntgenstrahlen aussetzte, um zu sehen, ob letztere Aenderungen in dem Nährboden hervorbringen würden; hierauf wurde dieses Bouillonröhrchen mit einer Platinöse einer Staphylokokkenkultur geimpft und zugleich mit den 6 anderen in den Brütschrank gegeben.

Nach 24 Stunden war in denselben vollkommenes Wachstum, somit gar keine Veränderung in den Eigenschaften des Nährbodens eingetreten. Auf Grund dieser Resultate kann ich den Schluß ziehen, daß den Röntgenstrahlen jede Einwirkung auf Bakterien abzusprechen ist.

Gleichzeitig komme ich einer angenehmen Pflicht nach, Herrn Prof. Tavel, Direktor des hiesigen bakteriologischen Institutes, für sein reges Interesse und Herrn Prof. Forster für die Güte, die er hatte, mir das physikalische Institut der hiesigen Universität zu den Versuchen zur Verfügung gestellt zu haben, meinen besten Dank zu sagen.

Bern, im September 1896.

Referate.

Cramer, C., Leben und Wirken Carl Wilhelm von Nägeli's, Prof. der Botanik in München etc. 8°. VIII u. 91 p. Zürich (J. Schultheß) 1896.

Nägeli's Verdienst um die Erforschung der niederen Organismen ist ein so hohes, daß die vorliegende zusammenfassende Darstellung seines Wirkens in dieser Zeitschrift nicht unerwähnt bleiben darf. — Die vorliegende Schrift wendet sich an einen weiteren wissenschaftlichen Leserkreis und aus diesem Grunde konnten die spezifisch botanischen Schriften nicht näher besprochen werden. Sie zerfällt in 2 Teile, von denen der erste mit biographischen Daten sich beschäftigt, der zweite die allgemein botanischen und biologischen Schriften Nägeli's behandelt. Der Verf. hielt es für durchaus geboten, die mehr naturphilosophischen Schriften Nägeli's, wenn auch nur in ihren Hauptzügen, zur Darstellung zu bringen, „zumal Nägeli's wissenschaftliche Grundanschauungen noch lange nicht allgemein genug gewürdigt sind".

Nachdem Nägeli, der 1817 in Kilchberg bei Zürich geboren wurde, das Gymnasium in Zürich beendigte, sollte er an der Universität Zürich Medizin studieren. Bald wendet er sich jedoch den naturwissenschaftlichen Studien zu. Schon in Zürich unter Oken ist seine Vorliebe für Botanik erwacht. Unter der Führung von Pyramus de Candolle in Genf widmet er sich später der Botanik und promoviert in Zürich mit einer Arbeit über Cirsien. Er zieht nunmehr nach Berlin und von dort nach Jena zu Schleiden, mit welchem er die Zeitschrift für wissenschaftliche Botanik begründet. Im Jahre 1842 erfolgt seine Habilitation an der Zürcher Universität. — Es kann nicht Aufgabe des Ref. sein, den Lebensgang Nägeli's an Hand der Cramer'schen Schrift chronologisch zu verfolgen. In höchstem Grade anziehend sind die Schilderungen der persönlichen Erinnerungen des Verf.'s an Nägeli. Folgte er doch diesem, als derselbe an die Universität Freiburg i. Br. berufen wurde, und war er auch später sein wissenschaftlicher Mitarbeiter. Es mögen darum noch einige biographische Daten der Cramer'schen Schrift entnommen werden.

Schon in Zürich und noch mehr nach seiner schließlichen Uebersiedelung in München scharten sich um den jungen Gelehrten eine Reihe jüngerer Botaniker. Als eigentliche Schüler konnten nur wenige derselben gelten, denn nur wenigen war die gesamte geistige Eigenart Nägeli's eigentümlich. In der Beurteilung dieser stimmt Cramer mit Schwendener im wesentlichen überein: Die meisten Arbeiten dieses Botanikers sind charakterisiert durch den streng mathematischen Zug, logische Schärfe des Gedankenganges und Neigung zu naturphilosophischer Spekulation. Eine weitere Eigentümlichkeit Nägeli's sei, meint der Verf., in seinem Verhalten als Kritiker gegeben. Irrtümliche Behauptungen ließ er gewöhnlich un-

beantwortet, denn „sie verfallen ja mit der Zeit von selbst der Vergessenheit anheim". Nahm er einmal die Feder ernstlich zur Kritik in die Hand, so war es stets auf die Sache abgesehen. Die Personen waren dabei häufig gar nicht genannt.

Daß Nägeli eine zarte Konstitution besaß, ist oft mitgeteilt worden. Weniger bekannt dürfte es sein, wie „anhaltend und hochgradig er oft körperlich zu leiden hatte". Sein Unwohlsein datierte seit dem Jahre 1856 und hielt an mit kurzen Unterbrechungen bis an sein Lebensende. Fieberzustände verbunden mit hochgradiger Nervosität dauerten jahrelang. Durch fleißige Exkursionen und strenge Diät erlangte er schließlich seine frühere Geistesfrische. Allein die geistige Ueberanstrengung führte die früheren Uebel wieder herbei. — Wir müssen uns versagen, die zahlreichen Briefauszüge zu erwähnen, welche die Schrift enthält, — es ist schade, daß diese nicht in noch größerer Anzahl der Schrift beigegeben sind. Das nahe Verhältnis Cramer's zu Nägeli dürfte noch weitere interessantere Aufschlüsse erwarten lassen.

In dem zweiten umfangreicheren Teile werden die verschiedenen theoretisch wichtigen Schriften Nägeli's behandelt. Es finden hier Erwähnung: Intussusceptions- uud Micellartheorie, Gärungstheorie und die Stellung Nägeli's zur Bakterienforschung; ferner: Idioplasma, Urzeugung, Ursache der Veränderung, Anlagen und Entfaltung zu sichtbaren Merkmalen, Varietät, Rasse und Ernährungsmodifikation, Kritik der Theorie von der natürlichen Zuchtwahl, phylogenetische Entwickelungsgesetze des Pflanzenreichs, Generationswechsel in ontogenetischer und phylogenetischer Beziehung, Morphologie und Systematik als phylogenetische Wissenschaften, Isagität und Amertheorie, Wesen und Zustandekommen des Geisteslebens. — Die Schrift verschafft einen Ueberblick über die gesamten theoretischen Ansichten des großen Forschers, verfolgt aber nicht den Zweck, das Studium Nägeli's unnötig zu machen. Auf den 4 letzten Seiten wird ein Verzeichnis aller gedruckten Schriften Nägeli's gegeben.

Maurizio (Zürich).

Kelhofer, W., Ueber die Zusammensetzung und die Vergärbarkeit des Fruchtzuckers. (Jahresber. der deutsch-schweizerischen Versuchsstation in Wädensweil. IV.)

Drei Vorteile werden dem in den Handel gebrachten Fruchtzucker, der übrigens neuerdings zur Hälfte aus Rohrzucker besteht, nachgerühmt: bequemere Anwendung, besserer Geschmak und leichtere Vergärbarkeit. Der erstere mag zugegeben werden, der zweite ist bei dem starken Zusatz von Rohrzucker sehr zweifelhaft und der dritte ist thatsächlich nicht vorhanden. Denn Versuche ergaben, daß schon vor Beendigung der Gärung sämtlicher Rohrzucker in Invertzucker umgewandelt war, daß die Vergärung des Rohrzuckers ebenso rasch erfolgte wie die des Fruchzuckers. Dazu kommt, daß der Fruchtzucker höher im Preise steht.

Schmid (Tübingen).

Marpmann, G., Ueber blaue Hefen. (Zeitschrift für angewandte Mikroskopie. Bd. II. 1896. Heft 1. p. 9—10.)

Eine bekannte Krankheit der Gärungshefe besteht in Grau- bis Blaufärbung der getrockneten Preßhefe. Als Ursache hat man verschiedene Gründe angegeben. So sollten in den betreffenden Maischen oder Würzen oder auch in dem Gebrauchswasser oder in den Gefäßen irgendwelche Metallsalze enthalten sein, die die direkte Blaufärbung des Hefeprotoplasmas bewirkten. In neuerer Zeit hat man die Blaufärbung durch gleichzeitige Entwickelung schlechter Säuren begründet. Reine Milchsäuregärung verhindert das Blauwerden, es werde somit Regel für die Gärung milchsaure Maischsalze zu verwenden. Die Verwendung milchsaurer Würzen sollte ohne Erfolg auf die Krankheit bleiben.

Die mikroskopische Untersuchung blauer Hefe zeigt die Hefezelle als unverändert und farblos, während ein bläulich gefärbter Schleim die Zellen einhüllt. Erst wenn in einem späteren Stadium der bläuliche Schleim verändert ist, zieht auch die Hefezelle den bläulichen Farbstoff an sich und dadurch ist wohl die Täuschung entstanden, daß die Hefe selbst blau gefärbt erscheinen soll.

Jedenfalls hat sich ergeben, daß das Blauwerden der Hefe durch gleichzeitige Bakteriengärungen hervorgerufen wird und daß also die bekannten Schutzmittel gegen diese Bakterien, Fluorwasserstoffsäure oder Formaldehyd, die Hefekultur gegen Bakterienkrankheit schützen müssen.

Verf. will die Untersuchungen weiterfortführen, um die Bakterien näher charakterisieren und die einzelnen Arten feststellen zu können.

E. Roth (Halle a. S.).

Rapp, R., Einfluß des Sauerstoffes auf gärende Hefe. (Berichte der deutsch. chemischen Gesellschaft. XXIX. 1896. No. 13. p. 1983).

Verf. hat die Untersuchungen Chudiakow's (Landwirtsch. Jahrbuch 1894) über obiges Thema einer Nachprüfung unterworfen, auf Grund deren er zu wesentlich anderen Resultaten gelangte, obgleich er die Arbeitsmethoden Chudiakow's beibehielt, bez. im Einzelnen verbesserte.

Eine Unterdrückung der Gärthätigkeit infolge Durchleitens von Luft, wie sie von Chudiakow beobachtet worden war, trat niemals ein. Allerdings war bei mäßig großen Hefemengen, wie Chudiakow arbeitete, eine Hemmung der Gärung wahrnehmbar, wenn absichtlich mehr Luft als gewöhnlich durch die Gärgefäße geleitet wurde. Die gärungshemmende Wirkung zeigte sich ebensogut auch, wenn man Wasserstoff in größerer Menge durch die Gärgefäße hindurchleitete. Hieraus geht hervor, daß nicht die chemische Natur des angewandten Gases, sondern allein der mechanische Effekt des starken Schüttelns die Ursache der Verzögerung der Gärung ist.

Letzteres wurde durch weitere Versuche bestätigt, bei denen überhaupt kein Gas durch die Flüssigkeit geleitet wurde, sondern letztere in einem Schüttelapparat einige Stunden lang starken Schüttelstößen ausgesetzt wurde. Der Sauerstoff ist für die Vermehrung der Hefezellen bei der gegebenen Versuchsanordnung nötig, für den Gärungsvorgang selbst aber gleichgiltig. L. Steuber (München).

Müller-Thurgau, H., Gewinnung und Vermehrung von Weinheferassen. Ansiedelung guter Hefen im Weinbergsboden. Eigenschaften und Verwendung der Reinhefen. (Jahresbericht der Versuchsstation in Wädensweil. IV. p. 64—68, 69—74, 74—78.)

Verf. tritt zunächst der Ansicht entgegen, als ob auf jeder Traubensorte nur eine ihr eigentümliche Heferasse existiere, und ferner, als ob man imstande wäre, mit Hefe einer bestimmten Herkunft, z. B. Rieslingshefe, jedem beliebigen Traubenmoste den Charakter eines Rieslingsweines zu verleihen, wie man aus der Reklame der Hefefabriken schließen könnte. Die Hefe gelangt ja vom Boden auf die Trauben, und deshalb ist dieser ausschlaggebend. Freilich soll damit nicht gesagt sein, daß nicht bei zwei verschiedenen auf demselben Boden gewachsenen Weinsorten zwei verschiedene Heferassen die Gärung vollziehen; ja es ist sogar möglich, daß auf großen Flächen, wo seit Jahren nur eine einzige Rebsorte gezogen wird, eine natürliche Zuchtwahl under den Heferassen stattgefunden hat und nur eine einzige übrig geblieben ist, welche der Vergärung des betreffenden Traubenmostes besonders günstig ist. Daher erklärt sich auch, daß unter den gezüchteten Hefen bestimmte Gruppen charakteristisch sich abheben, z. B. die Rheinweinhefen, Champagnerhefen u. s. w. Da nicht alle dieser Hefen in gleichem Maße gärkräftig sind, so ist es Aufgabe der Versuchsstationen, die leistungsfähigsten auszuwählen und nur für bestimmte Gebrauchszwecke als Reinhefen zu ziehen.

Ferner ist es ein Irrtum, zu glauben, daß auf Trauben guter Qualität nur gute Hefen vorkommen. Um den Wert einer Heferasse kennen zu lernen, ist es vielmehr notwendig, sie einer Probe auf rasche und vollkommene Vergärung des Mostes zu unterwerfen. Verf. empfiehlt die Einrichtnng staatlicher Versuchsstationen in der Weise, daß diese, ähnlich denen für Prüfung von Kunstdüngern und Futtermitteln, eine Kontrolle über Reinheit, Alter und Gärkraft der Heferassen auszuüben hätten, um den Praktikern eine gewisse Garantie für die Güte des bezogenen Materials zu bieten. Die angewandte Reinhefe ergiebt aber keine Reingärung, denn den Trauben haftet die sog. Eigenhefe an, welche an der Gärung teilnimmt. Um nun den Einfluß dieser Eigenhefe, der meist gegenüber dem der Reinhefe ein ungünstiger ist, möglichst zu beschränken, empfiehlt Verf., die Traubentrester, von denen die Reinhefe stammt, im Weinberg auszubreiten und leicht unterzuhacken, letzteres zur Verhütung der Schimmelbildung. Versuche haben gezeigt, daß die Hefe dieser Trester sich ein Jahr und mehr im Boden lebenskräftig erhält und daß im darauffolgenden Jahre der ungünstige Einfluß der „Eigenhefe“ sehr zurücktrat.

Ein weiterer Gesichtspunkt zur Erzielung einer reinen Gärung ist die Auswahl der richtigen Heferasse. So sind zwar an sich energisch vergärende Rassen von den anderen zu unterscheiden, aber von Einfluß ist auch das zu vergärende Medium. Dieselben Rassen können von verschiedener Leistungsfähigkeit sein, je in Rot- oder Weißwein, für Obst- oder Traubenmost.

Hängt auch das Bouquet nicht von der verwendeten Heferasse,

sondern von vielen z. T. unbekannten Faktoren ab, so wird doch der Geruch und Geschmack des Weines von der vergärenden Heferasse sehr wesentlich beeinflußt und es ist aus diesem Grunde eine sorgfältige Auswahl zu treffen. Die zahlreichen sich hieran schließenden Winke des Verf.'s für die Praktiker sollen übergangen werden.

Schmid (Tübingen).

Kelhofer, W., Zur Beurteilung der 94er Traubensäfte gegenüber den 93ern. (Jahresber. der deutsch-schweizerischen Versuchsstation in Wädensweil. IV. p. 79—86.)

Verf. bringt den Beweis, daß den Oechslegraden, welche das Mostgewicht angeben, für die verschiedenen Jahrgänge nicht immer dieselbe Bedeutung bezüglich Qualitätsbeurteilung zukommt, daß vielmehr in schlechten Weinjahren die Oechslegrade mit einer größeren Zahl dividiert werden müssen als in guten, um den richtigen Prozentgehalt an Zucker zu bekommen; es fallen nämlich die Mostgewichte infolge des höheren Gehalts an Säuren in schlechten Weinjahren relativ höher aus als in guten Jahrgängen. Das zeigte sich besonders beim Vergleich 93er und 94er Traubenmostes. Es betrug nämlich für die Jahre:

	1893	1894
Das Mostgewicht	67,24°	65,90°
Der Zuckergehalt (erhalten durch Division mit 5)	13,4 %	13,2 %
Der wirkliche Zuckergehalt (nach Fehling)	14,8 %	13,2 %

Schmid (Tübingen).

Kelhofer, W., Ueber die Zusammensetzung des Schönungsniederschlags, bezw. die Entnahme von Gerbstoff aus dem Most bei Zusatz steigender Mengen des Schönungsmittels. (Jahresber. der deutsch-schweizerischen Versuchsstation in Wädensweil. IV. p. 86—89.)

Da die Haltbarkeit des Mostes wesentlich von seinem Gerbstoffgehalt abhängt, ist es wichtig, zu wissen, wie viel ihm durch die Art der Schönung entzogen wird. Es ergab sich: Bei Zusatz kleiner Mengen des Schönungsmittels entstehen relativ gerbstoffreichere Niederschläge, und zwar um so reichere, je mehr der Most Gerbstoff enthält. Absolut entziehen größere Mengen von Schönungsmitteln mehr Gerbstoff. Indes ist es nicht möglich, auch bei Anwendung sehr großer Mengen von Schönungsmitteln dem Moste allen Gerbstoff zu entziehen.

Nur eine ganz bestimmte, durch die Erfahrung zu ermittelnde Menge Schönungsmittel macht den Most hell, bei kleineren wie größeren Mengen bleibt der Wein trüb; ein Ueberschuß beeinträchtigt außerdem Geschmack und Haltbarkeit. Schmid (Tübingen).

Marpmann, Beiträge zur Käseflora. (Zeitschr. f. angewandte Mikroskopie. Bd. II. 1896. Heft 3. p. 68—79.)

Bestimmte Art der Käse sagt auch nur einer bestimmten Art der Pflanzen zu, so daß als Schlußresultat die Käsesorten als bestimmte Standorte der Mikrophyten auftreten. Die Pflanze des Käses muß ein Saprophyt sein, und als solche kennt man nur die

Pilze, da Algen und Lichenen nur vorübergehend auf einem Käse für kurze Zeit zu gedeihen vermögen. Von den Pilzen bleiben nur die übrig, die erstens wenig auffallen, und die, welche nicht zur Verschlechterung, sondern möglichst zur Verbesserung beitragen. Letztere kann durch Gärungserscheinungen und chemische Zersetzung des Kaseïns bedingt werden.

Die Käsepilze gehören den Sproß-, Spalt- oder Fadenpilzen an. Die ersten — Saccharomyceten — sind als Hefe in der Natur sehr verbreitet, aber es kommen auch Arten vor, welche den Charakter einer Hefe fast gar nicht oder in einem sehr geringen Grade besitzen. Während die exquisiten Bier- und Weinhefen sich durch eine starke Gärungsthätigkeit, durch Umsetzung des Zuckers in Alkohol und Kohlensäure auszeichnen, finden wir zahlreiche Vertreter der Gattung, die im Luftstaub, auf Früchten vorkommen und den Zucker überhaupt nicht zerlegen können.

In den Käsearten tritt die Hefe meistens zuerst im Quark auf, sie fehlt aber auch nicht in den älteren Sorten harter wie weicher Käse. Verf. geht dann auf die Züchtungsmethoden dieser Pilze ein, und hebt hervor, daß man bisher 21 Arten von Saccharomyces im Käse gefunden habe. Die Arten kommen teilweise bereits in der Milch vor und sind von dieser aus direkt in den Käse und dort zur Entwickelung gelangt. Der Zuckergehalt der Milch ist für manche Hefe ein notwendiger Nährstoff. Geringe Zuckermengen finden sich auch noch im Käse, so daß hier das Wachstum nicht gänzlich aufhört.

Von den Konidienformen der Fungi imperfecti finden sich sehr häufig:

Monilia candida, Torula casei, Oïdium lactis, O. album, O. rubens, O. monilioides, O. aurantiacum, Torula olivacea, Isaria sulfurea, Sporotrichum lactis.

Die Familie der Perisporiaceen hat zahlreiche Vertreter, welche überall in der Natur vorkommen, von denen Marpmann 5 Arten von Penicillium, 2 von Eurotium und 7 von Aspergillus aufführt.

Zygomycetensporen finden sich überall in der Luft und entwickeln sich auf Milch und feuchtem Käse; Marpmann's Liste umfaßt 12 Species.

Die pathogenen Schimmelpilze der Hautkrankheiten sind bis jetzt mit Sicherheit nicht in Milch und Käse gefunden, die Keime dieser Pilze kommen indes gelegentlich in der Luft vor und können dann auch auf Käse vegetieren. Es würde sich um die Favus-, Herpes- wie Pityriasispilze handeln.

In frischer Milch kommen die Schimmelpilze und Hefen seltener vor, mehr in älterer Milch und vorzugsweise dann, wenn die Milch zur Gewinnung von sauerem Rahm für Butter- und Käsebereitung längere Zeit aufbewahrt bleibt, dagegen finden sich die sämtlichen Pilze im Käse, teils im Innern, teils auf der Außenfläche.

Man beobachtet, daß die Schimmelpilze in bestimmten Nährlösungen oftmals größere Mengen Fett sowohl aus Albuminaten als aus Kohlehydraten bilden, die Fettbildung ist um so reichlicher, je

lebhafter das Wachstum, je reicher die Nährlösung an Nährstoffen und je energischer die Respiration vor sich geht.

Das Reifwerden wird durch verschiedene Gärungen bewirkt, und die letzteren hängen von den verschiedenen Pilzen ab, welche absichtlich zugesetzt oder zufällig in den Käsequark hineingeraten sind.

Die Spaltpilze erzeugen das Reifwerden des Käses im Innern, es sind fakultativ anaërobe oder exquisit anaërobe Arten, welche bei Luftabschluß das Kaseïn langsam zersetzen. Durch die Lebensprozesse entstehen Fermente und Zersetzungsprodukte der Eiweißmoleküle. In allen Fällen findet Peptonisierung der Albuminate statt, welche dann weiter in eine Spaltung der Peptone unter Abscheidung von Amidosporen verläuft. Leucin und Tyrosin sind die ersten Spaltungsprodukte, welche sich weiter in freie Fett- resp. aromatische Säuren zerlegen. Die Gärungen verlaufen verschieden, ob man den Käse an der Luft liegen oder in Töpfen, ob bei höherer oder niedrigerer Temperatur gären läßt.

Man kann sterilisierten Käse aufbewahren, so daß derselbe keine Zersetzungen erleidet; es findet dann kein Reifungsprozeß statt. Es hat sich gezeigt, daß die meisten Pilzarten fakultativ anaërob wachsen und Gase erzeugen; im Anfang bildet sich reines Wasserstoffgas, später tritt auch Kohlensäure auf. So erklären sich die Löcher im Käse, die als Gasblasen aufzufassen sind.

Eine genaue Kenntnis der einzelnen Arten fehlt aber bis jetzt leider noch.

Neben den Schimmelpilzen haben die Bakterien einen wesentlichen Einfluß auf die Geschmackseigentümlichkeit des Käses und sind wohl die alleinige Ursache der Gärungserscheinungen, die mit der Zersetzung der Eiweißkörper einhergehen.

Verf. zählt dann die bisher beobachteten Bakterien auf:

I. Coccogenae.

a)	Ohne Farbstoffbildung,	die Gelatine	nicht	verflüssigend	16	Arten,
b)	„ „	„	„	verflüssigend	5	„
c)	gelbe Kolonieen,	„	„	nicht verflüssigend	7	„
d)	„ „	„	„	verflüssigend	8	„
e)	Streptokokken mit Oberflächenwachstum				2	„
f)	„ ohne „				7	„
g)	Sarcina ohne Farbstoffbildung				4	„
h)	„ mit gelber „				3	„
i)	Pediococcus				2	„

II. Baculogenae mit Oberflächenwachstum.

Die Gelatine nicht verflüssigend	11	Arten,
„ „ verflüssigend	20	
Ohne Oberflächenwachstum im Gelatinestich	8	„

III. Trichogenae 2 Arten

E. Roth (Halle a. S.).

Wagner, G., Ueber die Verbreitung der Pilze durch Schnecken. (Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. 1896. p. 144.)

Die bisherigen Versuche haben zur Evidenz ergeben, daß die Schnecken unter Umständen einen großen Einfluß auf die Verbreitung der Pilze ausüben können. Die von den Schnecken mit der Nahrung aufgenommenen Konidiensporen oder Plasmopara werden völlig unversehrt und keimfähig wieder ausgeschieden und kann durch den an pilzfreien Pflanzen und Pflanzenteilen länger weilenden Kot erneuerte Infektion stattfinden, was in der freien Natur auch oft genug vorkommen mag. Aehnliche Versuche wurden auch mit anderen Pilzen durchgeführt und in den meisten Fällen Infektion nachgewiesen. Verf. hat vielfach beobachtet, daß Schnecken die Tubercularia auf Colutea arborescens L. und Amorpha fruticosa L. benagten, und wurden auch hier die Sporen unverdaut und unversehrt wieder ausgeschieden. Bezüglich der Tubercularia hat übrigens Verf. gefunden, daß dieser Pilz nicht in die gesunde unversehrte Rinde einzudringen vermag. Weitere Untersuchungen haben ergeben, daß verschiedene Schnecken, besonders Limax cinereo — niger Wolf (maximus), L. arborum Bouch. (marginatus Müll.) und Arion subfuscus Drap. (fuscus Müll.), Dermatea-(Pezicula-)Arten, Pilze, die noch stehende Bäume oft in weiter Ausdehnung einnehmen, mit Vorliebe aufsuchen. Besonders wird der Dermatea carpinea (Pers.) nachgestellt, nicht nur den ausgebildeten Apothecien, sondern auch dem konidientragenden Stroma (Tubercularia fasciculata Tode). Im Schneckenkote finden sich Sporen dieser Pilze in großen Mengen, vielfach auch keimend, doch gelang eine künstliche Infektion unbeschädigter Stämme noch nicht. Arion subfuscus Drap. scheidet die Schlauchsporen von Lachnea livida (Schum.) mit dem Kot unversehrt und keimfähig wieder aus, und wurde hier die Uebertragung der Sporen durch Schneckenkot genügend nachgewiesen. Auch mit einigen Ascobolus-Arten, besonders mit Ascob. immersus (Pers.), wurden Schnecken gefüttert, doch überstanden die Sporen den Verdauungsprozeß nicht. Dagegen zeigten verschiedene Versuche, daß Schnecken auch zur Verbreitung mancher Uredineen beitragen können und ist folgender Versuch auch in anderer Beziehung von Interesse: Exemplare von Succinia putris L. wurden einige Tage mit reichlich Puccinia tragendem Malachium aquaticum Fr. gefüttert. In einem Blumentopfe standen nun je eine Pflanze von Moehringia trinervia L., Stellaria nemorum L., St. media L. und St. Holostea L., die mit Wasser, in dem der Kot obiger Schnecken aufgelöst war, mehreremal gleichmäßig besprengt wurden. Die drei zuerst genannten Pflanzen wurden dadurch ziemlich stark infiziert, während St. Holostea anscheinend nicht die geringste Störung erkennen ließ. Ebenso mißlang hier eine direkte Aussaat. Im Hinblick darauf, daß man bei derartigen Infektionsversuchen die äußeren anatomischen Verhältnissen der Nährpflanze zu berücksichtigen hat, besonders den Cutinisierungsgrad der Epidermis, hielt Verf. St. Holostea eine Zeit lang sehr feucht und ununterbrochen unter Glas, wodurch die Pflanze ganz bedeutend verweichlichte, also in einen krankhaften Zustand versetzt wurde. Jetzt wurde eine neue Uebertragung vorgenommen, die über Erwarten gut gelang, wodurch

der Beweis geliefert ist, daß die frühere Meinung des Verf.'s, daß Uredineenaussaaten auf möglichst gesunde und kräftige Nährpflanzen (natürlich unter Berücksichtigung des Alters) am erfolgreichsten sind, unter Umständen doch nicht unbedingt richtig ist. Stift (Wien).

Sajó, Carl, Die San José-Schildlaus (Aspidiotus perniciosus Comst). (Oesterreichisches landwirtschaftliches Wochenblatt. 1896. p. 339.)

Verf. ist der Ansicht, daß man in Europa alle Ursache hat, die Verbreitung der San José-Schildlaus in Nordamerika mit besorgten Blicken zu verfolgen. Dieselbe verbreitet sich außerordentlich rasch und befällt nicht nur Obst-, Zier- und Waldbäume, sondern auch Früchte. Die ursprüngliche Heimat dieser schädlichsten aller Schildläuse ist nicht bekannt. Die Gefahr der Verbreitung liegt nun in der fabelhaften Fruchtbarkeit, indem unter günstigen Umständen die Nachkommenschaft eines einzigen Weibchens binnen eines Sommers über drei Milliarden betragen kann. In Amerika hat sich dieser Schädling binnen zwei Jahren von der atlantischen Küste an — wie im Fluge — über die Staaten New York, Georgia, Ohio, Delaware, Indiana, Pennsylvanien und Virginia verbreitet. Wenn nun die Schildlaus nach Europa eingeschleppt wird, so findet sie im größten Teil des europäischen Kontinents, mindestens bis zum 47.—48. Grad nördlicher Breite, ein entsprechendes Klima wie in Nordamerika. Diese Aussicht ist um so beunruhigender, da diese Schildlaus für den Obstbau noch gefährlicher ist, als die Reblaus für den Weinbau, weil sie nicht bloß auf verschiedenen Obstbäumen, sondern auch auf den beerenfrüchtigen Gartensträuchern, ferner auf Rosen, Crataegus, Salix, Ulmus, Tilia und einer ganzen Anzahl von wilden Bäumen lebt. Da nun seit dem Jahre 1892 sehr bedeutende Mengen Obst aus Kalifornien nach Europa eingeführt werden, so ist die Ansteckung eine leichte. Wenn dies bis jetzt noch nicht der Fall war, so liegt der Grund nur in dem Umstande, daß das Obst in den Städten sofort genossen wird.

Bezüglich der Lebensverhältnisse hat Howard für diese Art das Lebendiggebären der Jungen festgestellt, doch ist es nicht unmöglich, daß nur die Sommergenerationen lebendig geboren werden, während für die Winterszeit eine Eierbrut vorhanden sein könnte.

Infolge seiner grauen Schildchen wird der Schädling sehr leicht übersehen, da es den Anschein hat, als wären die betreffenden Pflanzenteile mit Asche bestreut. Auf jeden Fall ist es aber für die europäischen Länder dringend angezeigt, gegen diesen Schädling, der in Amerika schon große Anlagen total vernichtet hat, rechtzeitig Vorsichtsmaßregeln zu treffen, und da empfiehlt sich besonders die Walfischthranseife, von welcher 2 Pfund in einem Gallon Wasser aufgelöst werden. Die Bäume und Sträucher müssen mit der Lösung sehr ausgiebig behandelt werden und ist die Zeit der Behandlung im Herbst, unmittelbar nach dem Laubfall, dann im Frühjahr vor der Blüte. Wenn nach der Behandlung 5—6 heitere Tage eintreten, so kann die ganze Brut vernichtet werden. Es würde sich auch empfehlen, die Walfischthranseife gegen unsere europäischen kleineren

Schildläuse, wie z. B. gegen Diaspis rosae, Diaspis ostreaeformis, Diaspis Lepèrei, Mytilaspis pomorum u. s. w., zu versuchen, jedoch nur im Frühjahr. Stift (Wien).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Devarda, A., Ueber die Prüfung der Labpräparate und die Gerinnung der Milch durch Käselab. (Die landwirtschaftlichen Versuchsstationen. 1896. p. 401.)

Verf. verweist eingangs darauf, daß die bis jetzt übliche Methode zur Bestimmung des Wirkungswertes oder des Ausgiebigkeitsgrades eines Labpräparates keineswegs so scharfe und übereinstimmende Resultate giebt, als es wünschenswert wäre, infolgedessen jeder Versuch, hier eine Vervollkommnung herbeizuführen, als berechtigt angesehen werden muß. Unter Wirkungswert oder Wirksamkeit einer Labflüssigkeit bezw. eines Labpulvers versteht man die Anzahl Raumteile frischer, normaler, amphoter reagierender Milch, welche durch einen Teil Labpräparate bei der für die Wirkung des Labfermentes günstigsten Temperatur von 35 ° C in genau 40 Minuten zum Gerinnen gebracht werden. Bei den Versuchen wurde das folgende, etwas modifizierte Verfahren Soxhlet's angewendet, welches Verf. als ein genaues und zweckentsprechendes bezeichnet: 200 ccm frische Normalkuhmilch werden in einen ca. 300 ccm fassenden Glaskolben zunächst auf 35 ° C vorerwärmt, hierauf mit 2 ccm der Lablösung versetzt und sogleich unter gleichzeitigem sanften Schütteln des Kolbens die Zeit notiert. Man senkt nun ein Thermometer in die Milch ein und stellt den Kolben in ein auf ca. 36 ° erwärmtes Wasserbad, worauf man fortwährend durch langsames sanftes Neigen des Kolbens die Art des Abrinnens der Milch an der Glaswand beobachtet und fortan fest im Auge behält. Die Milch wird nach einigen Minuten dickflüssig und an der Glaswand käsig und fadenziehend abrinnen. Da diese Erscheinung immer plötzlich eintritt, so ist dieselbe mit der Uhr in der Hand und möglichst scharf festzustellen. Während der ganzen Einwirkungszeit muß die Milch genau die Temperatur von 35 ° C haben. Betreffs der Stärke der Lablösungen gelten folgende Regeln: 1) Bei Labflüssigkeiten verdünnt man 10 ccm der Labflüssigkeit mit Wasser auf 200 ccm. 2) Bei Labpulver werden genau 1,25 g des Pulvers abgewogen und mit Wasser auf 200 ccm gelöst.

Bezüglich der weiteren Versuche, bei welchen sich Verf. mit dem Einfluß der Eigenschaften der Milch auf die Bestimmung des Wirkungswertes, mit der Bestimmung der Normalität der Milch, mit Normalmilch und abnormaler Milch, sowie mit dem Einfluß der Eigenschaften der Milch auf die Proportionalität der Gerinnungszeiten und den Eigenschaften, Bestimmung des Wirkungswertes und Anwendung des Kontrolllabs beschäftigt, muß auf das Original ver-

wiesen werden. Zum Schlusse hebt Verf. noch hervor, daß, so wie bei der Labprüfung das Kontrolllab eine wichtige Rolle spielt, dasselbe auch in gewissen Fällen bei der Milchuntersuchung gute Dienste leisten kann. Jedoch sind die durch die „Labgerinnungsmethoden" erhaltenen Resultate bei der Abhängigkeit dieser Methode von äußeren Einflüssen nur mit großer Vorsicht anzuwenden. Ferner vermag diese Methode noch bei der Untersuchung der Milch auf Zusatz von kohlensaurem Natron und zur Konstatierung, ob eine Milch sterilisiert und in welchem Grade, gute Dienste zu leisten, und behält sich Verf. über dieses Kapitel der Prüfung der Milch auf Grund ihres Gerinnungsvermögens weitere Untersuchungen vor.

Stift (Wien).

Henriques, V., und Stribolt, V., Forsög med et selvregulerende Pasteuriseringsapparat. [Ein selbstregulierender Pasteurisierungsapparat.] (35. Beretning fra den Kgl. Veterin- og Landbohöjskoles Laboratorium for landökonomiske Forsög. Kjöbenhavn 1896. p. 1—25.)

Der Regulator beruht auf ähnlichem Prinzip wie der Gaszuflußregulator von Roux. Derselbe besteht aus einem oberflächlich verzinnten, zusammengelöteten Stahl- und Messingstab von je 2 qcm Durchmesser, ist hufeisenförmig gebogen, so daß die Länge jedes Schenkels ca. 62 cm ausmacht. Der eine Schenkel wird an der Wand eines seitlich am gewöhnlichen aufrechtstehenden Pasteurisierapparat von Fjord angebrachten viereckigen, länglichen Kastens fest gemacht, während das Ende des freien Schenkels ein Stäbchen trägt, dessen Länge so eingestellt werden kann, daß bei dem Eintreten der gewünschten Pasteurisierungstemperatur das Zuflußventil für die Milch eben geöffnet wird. Unter Voraussetzung der genannten Dimensionen wird eine Temperaturveränderung von 1 ^{0} C eine Verschiebung des Regulatorstäbchens von 0,1 mm bedingen, woraus wiederum bei einem Durchmesser der beiden cirkulären Ventilöffnungen von 18 cm eine Vergrößerung oder Verringerung des Ausströmungsareals mit 1,44 qcm folgt; es folgt hieraus eine sehr feine Temperaturregulierung. Der genannte Kasten, der den Regulator enthält, ist so angebracht, daß derselbe stets von der aus dem Apparate ausströmenden Milch umspült wird. Sebelien (Aas in Norwegen).

Sartorius, F., Neuer Wärmekasten zum Brühen von Bacillen, Bakterien und zum Einbetten mikroskopischer Präparate in Paraffin für beliebiges Heizmaterial. (Zeitschrift für angewandte Mikroskopie. Bd. II. 1896. Heft 5. p. 129—133.)

Die wesentlichen Vorzüge des neuen Apparates, dessen ausführliche Beschreibung wir hier nicht wiederzugeben vermögen, sind:

1) Sparsamer Verbrauch von Brennmaterial infolge guter Wärmeisolierung.

2) Automatische Abgabe des Wassers zur feuchten Ventilation.

3) Eine Wärmereguliervorrichtung, die sich ausgezeichnet bewährt, wenn sie einmal auf die beabsichtigte Temperatur eingestellt ist.

4) Zulässigkeit der Anwendung beliebiger Wärmequellen, wodurch der Gebrauch des Apparates auch besonders an solchen Wohnorten empfehlenswert ist, an denen Leuchtgaseinrichtung mangelt.

5) Zulässigkeit der Benutzung des bekannten Quecksilberregulators bei Gebrauch des Leuchtgases, indem man einen solchen direkt in das Wasser einläßt und ihn mit einer Gasleitung zur Regulierung der Flamme verbindet.

2 Figuren erläutern die Beschreibung.

Der Apparat ist durch F. Sartorius in Göttingen zu beziehen.

E. Roth (Halle a. S.).

Müller-Thurgau, H., Konservierung von unvergorenem Trauben- und Obstsaft. (Jahresber. der Versuchsstation in Wädensweil. IV. p. 78 und 79.)

Das Verfahren zur Gewinnung besteht darin, daß der Traubensaft in einem sog. Pasteurisierapparat erwärmt und, sofort abgekühlt, in ein Faß geleitet wird. Nachdem die Hauptmasse der Ausscheidungen sich abgesetzt hat, wird filtriert, das Filtrat auf Flaschen gefüllt und nochmals pasteurisiert in einer Temperatur, welche die zuerst angewandte nicht überschreiten darf, worauf der Saft klar bleibt. Dieses Getränk dürfte nach Verf. für alle, welche freiwillig oder unfreiwillig keinen Alkohol genießen, nicht ohne Wert sein. Schmid (Tübingen).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Sidler, Alb., Versuche über Bekämpfung der Pflanzenfeinde. (Jahresber. der deutsch-schweizerischen Versuchsstation in Wädensweil. IV. p. 96—98.)

Die Bespritzung der Pflanzen mit reiner Lysollösung zum Zweck der Blattläusevertilgung hatte bei größerer Verdünnung keine Wirkung, bei geringerer gingen auch die Blätter ein; wirksam gegen die Blattläuse und unschädlich für die Pflanzen erwies sich eine Lösung von 30 g Schmierseife und 20 g Fuselöl in 1 l Regenwasser.

Ein neues Mittel gegen Phytoptus piri Pap, genannt „Mohr's Insektengiftessenz“, hatte in der Lösung von 40 g Schmierseife + 40 g Essenz auf 1 l Regenwasser guten Erfolg.

Eine 1—2-proz. Lösung von Lysol gegen Blutläuse ist, wenn die befallenen Stellen damit abgebürstet werden, von gutem Erfolg begleitet. Gegen entferntere Teile gespritzt, läuft sie ziemlich wirkungslos ab, ein Zusatz von Fuselöl wird die „Wolle“ leichter durchdringen und läßt einen guten Erfolg erhoffen. Schmid (Tübingen).

Müller-Thurgau, H., Behandlung des Gummiflusses an Steinobstbäumen. (Jahresber. der deutsch-schweizerischen Versuchsstation in Wädensweil. IV. p. 60—61.)

Zwei Heilmittel wurden versucht. Die Anbringung von Schröpfwunden, welche sich oberhalb und unterhalb der Wunde noch 10 cm weit erstrecken, war nur teilweise von Erfolg begleitet. Dagegen hatte die Behandlung der Gummiflußwunden mit Essigsäure — es wurden Leinwandlappen, getränkt mit einer Mischung von der konzentrierten Säure mit Wasser im Verhältnis 1 : 1, auf die Wunden aufgelegt — gute Resultate aufzuweisen. Die Versuche werden fortgesetzt. Schmid (Tübingen).

Müller-Thurgau, H., Heranzucht von Reben, welche der Reblaus widerstehen. (Jahresber. der deutsch-schweizerischen Versuchsstation in Wädensweil. IV. p. 62—64.)

Nachdem die Versuche, durch Kreuzung einheimischer mit amerikanischen Sorten, sowohl gegen die Reblaus widerstandsfähige Reben als solche mit brauchbaren Trauben zu erziehen, bis jetzt mißlungen waren, haben die Rebenveredlungen bessere Resultate ergeben. Nur muß große Sorgfalt auf die Auswahl der für den jeweiligen Standort etc. passenden Sorten verwendet werden. Besonders Riparia-Arten erwiesen sich bis jetzt als Grundlage zur Veredlung sehr geeignet. Verf. führt 34 Sorten auf, die zur Veredlung kamen und sich mehr oder weniger gut bewährt haben.

Schmid (Tübingen).

Kelhofer, W., Borol, ein neues Peronosporabekämpfungsmittel. (Jahresber. der deutsch-schweiz. Versuchsstation in Wädensweil. IV. p. 90—91.)

Das neue Präparat (Boralkalisulfat D. R. P. 57964) besteht aus Glaubersalz (etwa $^2/_3$ des Ganzen), Borsäure, freier Schwefelsäure und Wasser; bei seiner Verwendung soll 1 l mit 100 l Wasser mischt werden. Günstige Resultate bei der praktischen Anwendung des Mittels haben sich nicht ergeben; außerdem ist die freie Schwefelsäure eine sehr bedenkliche Zugabe und das ganze Mittel ziemlich teuer. Die Bordeauxbrühe z. B. ist deshalb weit vorzuziehen.

Schmid (Tübingen).

Corrigendum.

In Abt. II. Bd. II. p. 455. Absatz 2. Zeile 4 ist anstatt „in 25-proz. Nitritlösung" zu lesen: „in 25 ccm Nitritlösung".

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Dr. Wilhelm Windisch.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Blytt, A., Bidrag til Kundskaben om Norges soparter. IV. Peronosporaceae, Chytridiaceae, Protomycetaceae, Ustilagineae, Uredineae. (Christiania Vidensk. Selsk. Forhandl. 1896. No. 6.)

Canestrini, G., Batteriologia, 2a ediz. in gran parte rifatta. 16⁰. 284 p. Con 37 incisioni. Milano (Man. Hoepli) 1896.

Collins, F. S., New Cyanophyceae. (Erythea. 1896. p. 19.)

Dangeard, P. H., Contribution à l'étude des Acrasiées. (Le Botaniste. Sér. 5. Fasc. 1. 1896. p. 1. Avec fig.)

Daresy, Prosper, Recherches sur la matière grasse de la levure de bière. 8⁰. 47 p. Toulouse (impr. Marquès & Co.) 1896.

Fermi, Claudio, I microrganismi non peptonizzano l'albumina. Nella putrefazione non si produce peptone. (Centralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskrank. I. Abt. Bd. XX. 1896. No. 10/11. p. 387—393.)

Gautier, A., La nature des toxines. (Rev. scient. Sér. 4. 1896. No. 12. p. 353—359.)

Hariot, P., Le genre Pilonema. (Journ. de Botan. 1896. p. 203.)

Harvey, F. L., Contribution to the Myxogasters of Maine. (Bull. Torrey Bot. Cl. 1896. p. 307.)

Houghton, E. M., The nature and manufacture of Bacteria products. (Bul. Pharm. Vol. X. 1896. No. 6. p. 248—253. With 5 figs.)

Leeds, Albert R., Bacteria in milk-sugar. (Journ. Amer. Chem. Soc. Vol. XVIII. 1896. p. 687—688.)

Lehmann, K. B. and **Neumann, R.**, Atlas und Grundriß der Bakteriologie und Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik. 2 Bände. München (J. F. Lehmann) 1896.

Mangin, L., Recherches sur les Péronosporées. (Bull. de la Soc. d'Hist. nat. d'Autun. T. VIII. 1896. p. 108. Avec table et 8 fig.)

Renault, B., Les bactéries dévoniennes et le genre Aporoxylon d'Unger. (Bull. du Mus. d'Hist. Natur. Paris 1896. p. 201.)

— —, Notes sur quelques nouvelles Bactéries fossiles. (Bull. du Mus. d'Hist. Nat. Paris 1896. p. 285.)

— —, Sur quelques Bactéries dévoniennes. (Compt. rend. T. CXXII. 1896. No. 21. p. 1226.)

Roze, E., Nouvelles observations sur les Bactériacées de la pomme de terre. (Compt. rend. hebdom. des séances de l'Académie des sciences. T. CXXIII. 1896. No. 16. p. 613.)

Setchell, W. A., Notes on Cyanophyceae. I. (Erythea. 1896. p. 87.)

Sternberg, G. M., A textbook of bacteriology. New York (W. Wood & Co.) 1896. 24 sh.

— —, Practical results of bacteriological researches. (Pop. Sci. Monthly. Vol. XLVIII. 1896. No. 6. p. 735—750.)

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Bütschli, O., Weitere Ausführungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Leipzig (W. Engelmann) 1896.

Buscalioni, L., Il Saccharomyces guttulatus Rob. (Malpighia. 1896. p. 281. Con tab.)

Carleton, M. A., A new Aecidium of peculiar Habit. (Trans. of Kansas Acad. of Sc. Vol. XIV. 1896. p. 44.)

Catiano, L., Ueber zwei fadenbildende Bakterien. (Cohn's Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. VII. 1896. p. 537. Mit 2 Tafeln.)

Dangeard, P. A., Note sur une nouvelle espèce de Chytridinée. (Le Botaniste. Sér. 5. fasc. 1. 1896. p. 21. Avec fig.)

Deckenbach, C., Note sur une nouvelle espèce de Mucorinées. (Scripta botanica. Vol. V. 1896. p. 245. Avec tab.)

Dietel, P. und **Neger, F.**, Uredineae chilenses. I. (Engl. Jahrb. Bd. XXII. 1896. p. 348. N. A.)

Gautier, A., Note sur les toxines microbiennes et animales. (Compt. rend. des séances de l'Académie des sciences de Paris. T. CXXII. 1896. No. 25. p. 1467—1468.)

v. Istvanffi, Gg., Untersuchungen über die physiologische Anatomie der Pilze mit besonderer Berücksichtigung des Leitungssystems bei den Hydnei, Telephorei und Tomentelli. (Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik. Bd. XXIX. 1896. Heft 3. p. 321 - 390.)

Legér, M., Recherches sur la structure de Mucorinées. (Thèse.) Poitiers (Druinand) 1896.

Lippert, Ch., Beitrag zur Biologie der Myxomyceten. Verhandl. d. zool.-bot. Ges. Wien. 1896. p. 235. Mit Taf. u. Fig.)

Neger, F., Las Uredineas en Chile. (An. de la Universidad Santiago, Chile. 1895. N. A.)

Nobbe, F. u. **Hiltner, L.**, Ueber die Anpassungsfähigkeit der Knöllchenbakterien ungleichen Ursprunges an verschiedene Leguminosegattungen. (Die landwirtschaftl. Versuchsstationen Bd. XLVII. 1896. Heft 4 u. 5. p. 257. Mit 6 Taf.)

Ottolenghi, S., Wirkung der Bakterien auf die Toxicität der Alkaloide. (Vierteljahrsschrift f. gerichtl. Medizin. 1896. Heft 3. p. 131—145.)

Rénon, Des variations de la couleur des spores de l'Aspergillus fumigatus. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1896. No. 9. p. 254—256.)

Richards, Ellen H., Reduction of nitrates by bacteria and consequent loss of nitrogen. (Tech. Quart. Vol. IX. 1896. No. 1. p. 40—59.)

Richards, H. M., On some points in the development of Aecidia. (Proc. of the Americ. Ac. of Arts and Sc. Vol. XXXI. 1896. p. 255. With fig.)

Smith, Annie L., Nomenclature of British Pyrenomycetes. (Journ. of Botan. 1896. p. 358.)

Tassi, F., Altre specie nuove di micromiceti. III. (Atti della R. Acc. dei Fisiocritici. Ser. IV. Vol. VIII. Siena 1896. N. A. IV. [l. c.] N. A.)

Vogel, H., Denitricrende Bakterien. (Apotheker-Ztg. Bd. XI. 1896. p. 704.)

Wagner, G., Beiträge zur Kenntnis der Puccinia silvatia Schroet. und der P. sessilis Schneid. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. 1896. p. 212.)

Wesbrook, F., The growth of cholera and other bacilli in direct sunlight. (Journ. of pathol. and bacteriol. 1896. Jan.)

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Barbet, E., Sur les difficultés que l'on éprouve en fermentation au début des campagnes de betteraves. (Bull. de l'Association des Chimistes. Année XIV. 1896/97. No. 2/3. p. 223.)

Boullanger, E., Contribution à l'étude de quelques levûres de bière. (Ann. de l'Instit. Pasteur. Année X. 1896. T. X. No. 10. p. 597.)

Kayser, E., Levûres sélectionnées. (Bull. de l'Association des Chimistes. Année XIV. 1896/97. No. 2/3. p. 209.)

Marmier, L., Revue des travaux publiés sur la microbie et les fermentations, pendant les années 1893 et 1894. (Revue génér. de Bot. 1896. p. 266.)

Molkerei.

Engstrom, N., Die praktische Bedeutung der neueren bakteriologischen Forschungen in der Butter- und Käsebereitung. (Kgl. Landt. Akad. Handl. Tidskr. Bd. XXXV. 1896. p. 3—21.)

Forret, J. A., The sterilization of milk. (Pharm. Journ. and Trans. Vol. IV. 1896. No. 1346. p. 281.)

Russell, F. L., Preservation of cream for market. (Maine Sta. Bul. XXIII. 2d ser. p. 4.)

Russell, L., Pasteurization of milk and cream for direct consumption. (Wisconsin Sta. Bul. XLIV. p. 48. 12 figs.)

Versuche mit Ansäuerung des Rahms mittels Reinkulturen. (Milchzeitung. Jahrg. XXV. 1896. No. 43. p. 685.)

Prefshefefabrikation.

Kusserow, R., Verlauf der Gärung, Größe und Beschaffenheit der Hefenernte als Funktionen der verschiedenen Zusammensetzung der Maischen und Würzen. (Brennerei-Zeitung. Jahrg. XIII. 1896. No. 294, 295, 296. p. 1733, 1739, 1745.)

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Busey, S. C. and **Kober, G. M.**, On morbific and infectious milk. (Public health. sep. 1896. No. 7. p. 117—131.)

Edelmann, R., Fleischbeschau. (Handbuch der Hygiene, hrsg. v. Th. Weyl. Lfg. 27.) gr. 8°. Jena (G. Fischer) 1896.

Freemann, R. G., Milch als Vermittlerin bei der Uebertragung von Krankheiten. (Milchzeitung. Jahrg. XXV. 1896. No. 43. p. 684.)

Niebel, W., Tetanus und Fleischgenuß. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. Jahrg. VII. 1866. Heft 1. p. 4—6.)

Parker, J. M., Milk as a factor in the causation of disease. (Journ. of comparat. med. Vol. XVII. 1896. No. 4. p. 253—258.)

Rodet, Sur la valeur nutritive du lait sterilisé. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1896. No. 19. p. 555—558.)

Wasser.

Arens, C., Ueber das Verhalten der Cholerabacillen im Wasser bei Anwesenheit von fäulnisfähigen Stoffen und höherer Temperatur. (Hygien. Rundschau. Bd. VI. 1896. p. 556.)

Bordoni-Uffreduzzi, G., Di alcune semplici modificazioni al metodo di Koch per l'analisi batteriologica delle acque. (Ufficiale sanit. 1896. Gennaio.)

Brotzu, L., Sull' acqua potabile di Cagliari. (Annali d'igiene sperim. Vol. VI. 1896. fasc. 2. p. 239—262.)

v. Freudenreich, Ed., Beitrag zur bakteriologischen Untersuchung des Wassers auf Colibakterien. (Centralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskrankh. I. Abt. Bd. XX. 1896. No. 14/15. p. 522.)

Loeffler, Oesten u. **Sendtner**, Wasserversorgung, Wasseruntersuchung und Wasserbeurteilung. (Handb. d. Hygiene, hrsg. v. Th. Weyl. Lfg. 24. p. 391. 85 Abbildgn.) 9 M.

Martin, A. J., Concours de la ville de Paris pour l'epuration au la stérilisation des eaux de rivière destinées à la boisson. (Annal. de microgr. 1896. No. 4. p. 137—170.)

Neifser, M., Ueber die hygienische Bedeutung des Protozoenbefundes in Wasser. (Zeitschr. f. Hygiene Bd. XXII. 1896. Heft 3. p. 475—484.)

Thaxter, R., New or peculiar aquatic fungi. IV. (Botan. Gaz. 1896. p. 317. With 3 tab.)

Wittlin, J., Des bactéries susceptibles de se développer lorsqu'on emploie la méthode de Parietti pour l'analyse bacteriologique de l'eau. (Annal. de microgr. 1893. No. 3. p. 89—110.)

Boden.

Richter, L., Ueber die Veränderungen, die der Boden durch das Sterilisieren erleidet. (Die landwirtschaftl. Versuchsstationen. Bd. XVIII. 1896. Heft 4 u. 5. p. 269.)

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Arthur, J. C. and **Bolley, H. L.**, Bacteriosis of Carnations. (Bull. No. LIX. Purdue Univ. Agric. Exper. Stat. Lafayette, Ind. 1896. March. With 8 plate.)

Cheney, L. S., Parasitic Fungi of the Wisconsin valley. (Trans. of the Wisconsin Acad. of Sc., Arts and Lettr. X. 1894/95. Madison 1895. p. 69.)

Clos, D., Caractères extérieurs et modes de répartition des petits tubercules ou tuberculoides des Légumineuses. (Compt. rend. des séances de l'Académie des scienc. de Paris. T. CXXIII. 1896. p. 407—410.)

Coste-Floret, Une nouvelle maladie des raisins. (Progr. Agr. et Vit. Vol. XXV. 1896. No. 25. p. 683—687.)

Craig, T., A rare fungus parasitic on an Oscillaria. (Proc. of the Nat. Sc. Assoc. Stat. of Island. V. 1896. No. 17.)

Cuboni, G., Per quali cause le piunte coltivate siano danneggiate gravemente da malattie che, fino a qualche decennio faerano completamente sconoscinte in Europa. (Le Stazioni sperimentali agrarie italiane. Vol. XXIX. Modena 1896. p. 101—116.)

Cunningham, D. D., A new and parasitic species of Choanephora. (Ann. of the Royal Bot. Gard. Calcutta. VI. Pt. I. 1895. With 2 tab.)

Dewey, Lyster H., Tumbling mustard, Sisymbrium altissimum. (U. St. Departm. of Agriculture division of Botany. Second edit. Circular No. 7. 1896.) 8°. 8 p. With fig. Washington 1896.

Dongé, E., Atlas de poche des insectes de France, utiles ou nuisibles. Avec 72 pl. Paris (Klincksieck) 1896.

Erikson, Jakob, Welche Rostarten zerstören die australischen Weizenernten? (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VI. 1896. p. 141—144.)

Fletcher, J., The cigar case-bearer of the apple. (Canadian Ent. Vol. XXVIII. 1896. No. 5. p. 128—130.)

Fuller, C., Forest insects — some gall making insects. (Ag. Gaz. N. S. Wales. Vol. VII. 1896. No. 4. p. 209—218. With 4 pl.)

Galloway, B. T., Einige wichtige Pflanzenkrankheiten in den Vereinigten Staaten, sowie deren Bekämpfung. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VI. 1896. Heft 3. p. 174.)

Halsted, B. D., Report of the Botanical Department of the New Yersey Agricultural College Experiment Station for 1895. p. 249—261. With 70 pl. and fig. Preston 1896.

— —, Fungous diseases of ornamental plants. (Transact. of the Massachussets Hortic. Soc. Pt. I. 1895. With figs.) Boston 1896.

Herrick, F. H., Abnormal hickory nuts. (The Amer. Journ. of Science. 1896. p. 258—262. 1 pl.)

Hori, S., The smut of Japanese cereals. (Bot. Mag. Tokyo 1896. p. 76—115.)

Infezioni dei peschi. (Boll. di Entomol. agrar. e Patol. veget. an. III. Padova 1896. p. 70—76.)

Injurious fungi and insects. (Journ. Brit. Board Agr. 1896. No. 4. p. 434—441. With 5 figs.)

Issatzchenko, B., Ueber die parasitischen Pilze des Gouvernements Cherson. St. Petersburg 1896. [Russisch.]

Kirchner, O. u. Boltshausen, A., Atlas der Krankheiten und Beschädigungen unserer landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. I. Krankheiten und Beschädigungen der Getreidearten. 20 Taf. Stuttgart (E. Ulmer) 1896. 10 M.

Lataste, F., Contagiosité et prophylaxie de la maladie tuberculeuse de la vigne. (Compt. rend. T. CXXIII. 1896. No. 3. p. 200.)

Ludwig, F., Sur les organismes des écoulements des arbres. Suite. (Rev. mycol. 1896. p. 114. Avec tab.)

Mac Bride, T. H., Saprophytic Fungi of eastern Jowa. (Bull. Lab. Nat. Hist. Univ. Jowa. III. 1895. p. 1.)

Magnus, P., Eine nordamerikanische Ustilaginee auf Panicum crus galli. (Ber. d. deutsch. bot. Gesellsch. 1896. p. 216. Mit Taf.)

Marchal, E., Les maladies cryptogamiques des plantes cultivées. Bruxelles (A. Casteigne) 1896. 2 fr.

Massalongo, C., Sul dimorfismo di natura parassitaria dei fiori di Convolvulus arvensis. (Boll. d. Soc. botan. italiana. 1896. p. 11—13.)

Michie, C. Y., The Larch disease. (Gard. Chron. Ser. 3, 19. 1896. No. 492. p. 670—671.)

Minà Palumbo, Note di entomologia agraria. (Boll. di Entomol. agraria e Patol. veget. an. III. Padova 1896. p. 53—56.)

Neger, F., Acomodacion de la Planta-Huésped a las condiciones de vida de un parásito. (Anales de la Universidad Santiago de Chile. T. XCI. 1896. p. 49.)

Patterson, F. W., A study of North American parasitic Exoasceae. (Bull. Lab. Nat. Hist. Univ. Jowa. III. 1895. p. 89. With 1 tab.)

Prunet, A., Les formes d'hiver de "black root". (Compt. rend. T. CXXII. 1896. No. 12. p. 739—742.)

Ranwez, F., L'altération du safran par des ascariens. (Annales de Pharmacie. 1896. No. 9)

Renard, Ad., Les principaux ennemis de la betterave et les moyens de les combattre. 8°. 63 p. Avec fig. Liége (J. Godenne) 1896. 1 fr.

Smith, E. F., The bacterial diseases of plants, a critical review of the present stage of our knowledge. I. (The Amer. Naturalist. 1896. p. 626.)

— —, The bacterial diseases of plants: A critical review of the present state of our knowledge. II. (The Amer. Naturalist. 1896. p. 716—731.)

Starbäck, K., Sphaerulina halophila, en parasitisk pyrenomycet. (Bihang til K. Svensk. Vet. Ak. Handl. XXI. Afd. III. 1896. No. 9. Tab.)

Stewart, F. C., Potato diseases on Long Island in the season of 1895. (New York Agric. Exp. Stat. Genera Bull. CI. 1896.)

Tognini, F., Sopra un micromicete nuovo probabile causa di malattia nel frumento. (Rendic. del R. Ist. Lomb. di sc. e lett. Ser. 2. Vol. XXIX. 1896.)

Viala, P. et **Ravaz, L.**, Sur le brunissement des boutures de la Vigne. (Compt. rend. T. CXXII. 1896. No. 20. p. 1142.)
Vuillemin, P., Les broussins des Myrtacées. (Ann. de la science agron. franç. et étrang. T. II. 1896. 39 p. Avec 3 pl.)
Wagner, G., Ueber die Verbreitung der Pilze durch Schnecken. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VI. 1896. p. 144—150.)
Waite, M. B., The cause and prevention of pear blight. (Yearbook of the U. S. Dep. of Agric. 1895. Washington 1896. p. 295.)
Wakker, J. H., De Oogvleckkenziekte der bladscheeden veroorzaakt door Cercospora Vaginae Krüg. (Arch. voor de Java-Suikerindustrie. 1896. Afl. 14. Tab.)
— —, De Schimmels in de Worthels van het Suikerriet. (Archiv voor de Java Suikerindustrie. 1896. Afl. 8. Tab.)
Webster, F. M., Diabrotica vittata as a greenhouse pest. (Ent. News. Vol. VII. 1896. No. 5. p. 138—139.)
Williams, Thomas A., Experiments with potato scab. Three injurious insects. (South Dakota Agricult. Coll. and Experim. Stat. Brookings, S. D. No. XLVIII. 1896. 8°. 20 p. With fig. Sioux Falls (W. A. Beach) 1896.
Woodworth, C. W., Notes on various diseases and insects. (Report of Work of the Agr. Exp. Stat. of the Univ. of California for the year 1894/95. Sacramento 1896. p. 231.)
Woronin, M. und **Nawaschin, S.**, Sclerotina heteroica. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VI. 1896. p. 129—140. Mit 2 Taf.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Davies, A. M., Description of a cheap, easily improvised and portable bacteriological apparatus. (Indian med. Gaz. 1896. No. 3. p. 88—92.)
Hesse, W., Die Petri'sche Doppelschale als Feuchtkammer. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXIII. 1896. No. 1.)
Kaspareck, Theodor, Ein einfacher Luftabschluß flüssiger Nährböden beim Kultivieren anaërober Bakterien. (Centralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskrankh. I. Abt. Bd. XX. 1896. No. 14/15. p. 536.)
Knaak, Eine einfache Methode der Gegenfärbung bei Bakterienuntersuchungen. (Dtsche med. Wchschr. 1896. No. 34. p. 551.)
Minot, Ch. S., Microtoma automatique nouveau. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1896. No. 21. p. 611—612.)
Pick, L. u. **Jacobsohn, J.**, Eine neue Methode zur Färbung der Bakterien, insbesondere des Gonococcus Neißer, im Trockenpräparat. (Berl. klin. Wchschr. 1896. No. 36. p. 811—812.)
Plenge, H., Zur Technik der Gefrierschnitte bei Härtung mit Formaldehydlösung. (Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. u. f. klin. Med. Bd. CXLIV. 1896. Heft 3. p. 409.)

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Andrjuschtschenko, E. A., Ueber die Wirkung des Airols auf Bakterien. (Wratsch. Bd. XVII. 1896. p. 991.) [Russisch.]
Elsner, O., Konservierende Wirkung des Formaldehyds. [Inaug.-Diss. Univ. Erlangen] 1896.
Galloway, B. T., Spraying for fruit diseases. (Farmers Bull. No. 38. 1896.)
Grofs, Gustav, Eine erfolgreiche Methode zur Bekämpfung des Rübenrüsselkäfers. (Bl. f. d. Zuckerrübenbau. 1896. p. 136.)
Jones, L. R., Potato blight and Fungicides. (Vermont Agric. Exp. Stat. Bull. XLIX. Burlington 1896. With figs.)
Klein, E., Das Verhältnis der immunisierenden Substanzen zu den spezifischen Mikroben. (Centralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskrankh. I. Abt. Bd. XX. 1896. No. 12/13. p. 417—420.)
Perraud, J., Action du sulfure de carbone sur quelques champignons et ferments et en particulier sur la fermentation nitrique. (Ann. de la science agronom. franç. et étrang. Sér. 2. T. I. 1896. p. 291.)
Reuter, F., Die antibakteriellen Eigenschaften des Jodoformins und Jodoformals. (Dtsche med. Wchschr. 1896. No. 30. p. 489—490.)
Schöyen, W. M., Ueber Petroleum-Emulsion. (Zeitschr. f. Pflanzenkrankh. Bd. VI. 1896. p. 150—151.)

Stewart, F. C., Combating carnation rust. (New York Agric. Exp. Stat. Genera Bull. C. 1896.)
Swingle, Walter T., Bordeaux mixture: its chemistry, physical properties and toxic effects on Fungi and Algae. (U. S. Departm. of Agricult. Divis. of veget. physiol. and pathol. Bull. IX.) 8°. 37 p. Washington (Government Printing office) 1896.
Trillat, A., La formaldéhyd et ses applications pour la désinfection des locaux contaminées. 8°. Paris (G. Carré) 1896.
Underwood, L. M. and **Earle, F. S.**, Treatment of some fungus diseases. (Alabama College Sta. Bul. LXIX p. 245—272.)
Vaillard, L. et **Besson**, Etuve à désinfection par circulation d'un courant de vapeur sous pression. (Arch. de méd. navale. 1896. No. 4. p. 283—301.)
Wheeler, H. J. and **Tucker, G. M.**, Upon the effect of Barnyard Manure and various compounds of Sodium, Calcium and Nitrogen upon the development of the potato scab. (Agric. Exp. Stat. of the Rhode Island Coll. of Agric. and Mech. Arts. Kingston Bull. No. 33. 1895.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

1896. Centralblatt Bd. II. No 21.
für Bakteriologie und Parasitenkunde.
II. Abteilung.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Prof. Dr. M. W. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. v. **Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, **Dr. Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

II. Band. — **Jena**, den 15. Dezember 1896. — **No. 22.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige ***Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original-Mittheilungen.

Ueber eine Eigentümlichkeit der löslichen Stärke.

Von

M. W. Beijerinck

in

Delft.

Die Diskussionen, welche in der letzten Zeit wieder über den Aufbau des Stärkekornes eröffnet sind, veranlassen mich, folgende Beobachtung mitzuteilen, welche vielleicht geeignet ist, neue Versuche über die Natur der kolloidalen Körper anzubahnen.

Bei meinen zahlreichen Diffusionsversuchen mit amylasehaltigen

Präparaten auf festem Substrate habe ich meistens anstatt gewöhnlicher Stärke lösliche Stärke verwendet. Dieser Körper entsteht [1]) durch Uebergießung von Kartoffelstärke mit Salzsäure von 7,5-proz., Einwirkung bei Zimmertemperatur während 2 Tagen und durch zweimalige Erneuerung der Säure und Wiederholung der Einwirkung. Es wird dann mit destilliertem Wasser ausgewaschen und zuletzt mit verdünntem Natriumkarbonat, wobei ein Körper resultiert, welcher mikroskopisch die Struktur und alle übrigen Eigenschaften des Stärkekornes beibehalten hat, sich jedoch in kochendem Wasser vollständig klar und in jedem Verhältnisse löst. Beim Erkalten der Lösung scheidet sich die Stärke jedoch in amorphem Zustande ab, und Lösungen von 8 Proz. und mehr erstarren beim Erkalten zu einer alabasterweißen Gallerte. Bei meinen obengenannten Versuchen mußte ich nun fortwährend rechnen mit der folgenden bemerkenswerten Eigenschaft der löslichen Stärke: Ihre wässerige Lösung läßt sich nicht mischen mit einer wässerigen Gelatinelösung, selbst nicht bei Kochhitze. Beim Schütteln beider entsteht deshalb eine Emulsion.

Versucht man also z. B. in einer 20-proz. Lösung löslicher Stärke durch Kochen 5-proz. Gelatine zu lösen, so wird man mit der Lupe oder bei schwacher Vergrößerung eines Tropfens der Mischung unter dem Mikroskope bemerken, daß man nur eine Emulsion erhalten hat, und zwar eine Emulsion von Gelatinetröpfchen in Stärkelösung. Läßt man sie erstarren, so entsteht eine Stärkeplatte, welche die erstarrten Gelatinetropfen in Suspension erhält. In den Gelatinetröpfchen finden sich ihrerseits eine große Menge äußerst fein verteilter Stärketröpfchen, welche nur bei stärkerer Vergrößerung und durch Jod-Einwirkung sichtbar werden.

Erhöht man den Gelatinegehalt der Stärkelösung, so entsteht allmählich eine Lösung, welche so viel Gelatinetröpfchen enthält, daß diese einander beim Erstarren beinahe berühren und abplatten können, und mit einiger Vorsicht läßt sich daraus auf der Objektplatte ein „künstliches Zellgewebe“ darstellen, wovon die Zwischenwände aus Stärke, der „Zellinhalt“ aus Gelatine besteht. Wird der Gelatinegehalt dann noch weiter vermehrt, so kehrt sich die Sache um, die Stärke scheidet sich als Tropfen ab, welche in der Gelatinemasse suspendiert sind. Beim Abkühlen erstarren diese Stärketröpfchen natürlich, doch zeigen sie dann, wie zu erwarten war, im polarisierten Lichte keine Doppelbrechung, so daß sie auf die Struktur der natürlichen Stärke kein neues Licht werfen. Fügt man der Gelatine Kochsalz zu, so löst sich darin etwas Stärke, was durch die Jodreaktion sichtbar wird. Steigende Gehalte an Glycerin wirken störend; 20 und mehr Proz. dieses Körpers zugesetzt, erzeugen eine anscheinend vollständige Mischung und heben zugleich das Erstarrungsvermögen auf. Läßt man durch Berührung mit Wasser das Glycerin hinausdiffundieren, so entsteht ein homogenes Gemisch, welches sich nach neuer Erhitzung wieder trennt.

Die Größe der Tröpfchen kann man willkürlich abändern, einfach durch starkes Schütteln der heißen Lösung. Da die Stärkelösung

1) Journal für praktische Chemie. Bd. XXXVI. 1886. p. 378.

spezifisch schwerer ist wie die Gelatinelösung, wird man bei ruhigem Stehen des Gemisches eine Trennung beider Bestandteile bemerken, wobei die Stärkelösung immer untersinkt, ähnlich wie eine Emulsion von Oel in Wasser sich trennen würde.

Mit Gelatine und Agar, Gelatine und Inulin, Gelatine und arabischem Gummi, Gelatine und Dextrin, Agar und löslicher Stärke, Agar und Inulin, Agar und arabischem Gummi, Agar und Dextrin habe ich die gleichen Erscheinungen nicht wahrnehmen können, ich muß deshalb annehmen, daß es sich um eine spezifische Eigenschaft der Stärke in Bezug auf Gelatine handelt. Besonders bemerkenswert scheinen mir die weiten Schwankungen, welche im Wassergehalt der beiden Lösungen vorkommen können, ohne daß dadurch der Hauptcharakter des Versuches geändert wird.

Die vielen Fragen, zu welchen dieses sonderbare Gemisch zweier Kolloiden veranlaßt, besonders diejenigen nach der Einwirkung von aussalzenden und lösenden Körpern, sowie diejenige nach der schließlichen Verteilung des Wassers zwischen den zwei Lösungen, deren osmotischer Druck wohl = 0 sein soll, blieben bisher unerörtert. Vielleicht wird irgend einer der Leser dieses Blattes geneigt sein, darauf weiter einzugehen, weil dabei in chemisch-physikalischer Richtung etwas Licht auf die Kolloidalstruktur fallen dürfte.

Delft, 8. November 1896.

Ueber die Einrichtung einer normalen Buttersäuregärung.

Von

M. W. Beijerinck

in

Delft.

Da das folgende Rezept zur Herstellung einer normalen Buttersäuregärung aus Zucker durch das Ferment dieser Gärung, Granulobacter saccharobutyricum[1]), wohl unbekannt sein dürfte, erlaube ich mir, darüber kurz zu berichten, indem weitere Mitteilungen später gegeben werden sollen.

Man bringe in ein gewöhnliches Kochkölbchen destilliertes Wasser mit 5 Proz. Glukose und 5 Proz. fein gemahlenem Fibrin, wodurch ein dicker Brei entsteht, welcher sich leicht absetzt in der übrigens klaren Flüssigkeit. Man koche kräftig, bis alle Luft entfernt ist, infiziere während des Kochens mit Gartenerde und stelle sofort nach der Infektion[2]) siedend heiß in einen Thermostaten bei 35° C. Die Erhitzung bezweckt Abtöten aller der Buttersäuregärung nachteiligen Neben-

1) Eine richtige Diagnose findet man in meiner „Butylalkoholgärung" p. 8. Amsterdam 1893, und in „Archives Néerlandaises". T. XIX. 1894. p. 8.

2) Das Ferment kann Kochhitze nur kurz ertragen.

fermente, wie Hefen, Mucor und Milchsäurebakterien, während die überall gegenwärtigen Sporen des Buttersäurefermentes dabei lebend bleiben, wie natürlich auch zahlreiche andere sporenerzeugende Arten, welche jedoch bei dieser Versuchseinrichtung nützlich sind, weil sie den Sauerstoff absorbieren und übrigens bald verdrängt werden. Nach 24 oder 48 Stunden ist die Gärung schon in vollem Gange und wird am besten mit Natronlauge beinahe neutralisiert. Dieses kann einigemal wiederholt werden, wodurch eine reichliche Anhäufung von Butyrat erhalten wird. Das hierbei aktive Ferment ist, infolge des nicht gänzlich ausgeschlossenen Luftzutrittes, wie auf Grund meiner früheren Untersuchung des so nahe verwandten Fermentes der Butylalkoholgärung zu erwarten war, die Sauerstoffform von Gr. saccharobutyricum (l. c. p. 27 resp. p. 35), und was ich noch besonders betonen will, weil man es auf Grund des ganz rohen Infektionsverfahrens kaum erwarten sollte, praktisch in Reinkultur, da die Buttersäure die Bakterien der Heupilzgruppe, welche bei der Infektion mit eingebracht sind, wie gesagt, bald zurückdrängt.

Wünscht man die Clostridiumform zu gleicher Zeit zu erhalten, so verfährt man wie folgt: Der obengenannten Lösung, worin die Glukose durch Rohrzucker ersetzt werden kann, fügt man 3 Proz. präzipitiertes Calciumcarbonat und 0,05-proz. Natriumphosphat, 0,05-proz. Magnesiumsulfat und 0,05-proz. Chlorkalium hinzu, verfährt übrigens genau wie oben. Das Bakterienwachstum wird dann profuser, zwar entsteht dabei hauptsächlich eine Kultur von Gr. saccharobutyricum mit recht schönen Clostridien, welche von Granulose strotzen, doch kommen auch gewisse andere Bakterien zur Entwickelung.

In beiden Fällen bildet das Buttersäureferment einen ziemlich lockeren Bakterienschleim. Die Isolierung desselben durch das Gelatineverfahren ist nicht schwierig und gelingt z. B. durch folgende Methode, welche ich die „Methode der Symbiose“ nennen will: Eine Lösung von 5 Proz. Gelatine in Leitungswasser wird mit 5 Proz. Rohrzucker versetzt; hat man Sporen in der Gärung, so kann man heiß infizieren, sonst läßt man abkühlen und schüttet eine Spur der Gärung in die Gelatine. Danach vermischt man mit irgend einer richtig gewählten sauerstoffbedürftigen Mikrobenart, welche nicht gärt und keine Säure erzeugt (ich wählte dafür z. B. Heupilze, Bacillus perlibratus, Saccharomyces spheromyces etc.), gießt in eine tiefe Reagensröhre und läßt erstarren.

Nach einigen Tagen hat sich an der Oberfläche der Gelatine eine Sauerstoff absorbierende Schicht aus dem aëroben Symbiont gebildet, während in der Tiefe die Kolonieen von Granulobacter saccharobutyricum heranwachsen.

In Uebereinstimmung mit meiner früheren Beschreibung erzeugt das so erhaltene Buttersäureferment keine Diastase, wodurch es sich von dem eigentlichen Butylferment unterscheidet. Dagegen bildet es eben wie letztere Art Butylalkohol und zugleich stark riechende Nebenprodukte. Die Gelatine wird nicht verflüssigt, selbst nicht nach Wochen, wobei die Kolonieen sehr groß werden können.

Meine bisherigen Erfahrungen lassen mich auf eine so außer-

ordentlich allgemeine Verbreitung des Buttersäurefermentes in den oberen Schichten von Gartenerde schließen, daß ich vertrauensvoll hier das Wort „Rezept" gebraucht habe in der Ueberzeugung, daß auch andere Forscher damit wirklich auskommen werden, was sich bekanntlich nicht immer ereignet, wenn man nach den in den chemischen Handbüchern angegebenen Rezepten Gärungen darzustellen sucht.

Delft, 22. November 1896.

Ueber Nitratbildung.

Vorläufige Miteilung.

Von

A. Stutzer und R. Hartleb.

Bei unseren Arbeiten über die Mikroorganismen, welche die Nitrifikation herbeiführen, machten wir die Beobachtung, daß hierbei zunächst ein Schimmelpilz thätig ist, welcher ein weitverzweigtes Mycel, sowie Makro- und Mikrosporen bildet. In den drei Entwickelungsstufen äußert der Pilz verschiedene Wirkungen. Auch ist zur Hervorbringung bestimmter Wirkungen die Zusammensetzung des Nährbodens, sowie der Zutritt oder Mangel an atmosphärischer Luft von großer Bedeutung. Unter gewissen Verhältnissen lebt der Schimmelpilz von organischen Stickstoffverbindungen und vermag dann Nitrifikation zu veranlassen, unter anderen Bedingungen zu erzeugen, dessen Dauerformen Nitrit und unter wieder anderen Verhältnissen Nitrat. Das Mycel kann in regelmäßige Zellen (kurze Schläuche) zerfallen, die den Bakterien ähnlich sind.

Nähere Mitteilungen werden demnächst folgen, und behalten wir uns vor, dieses Gebiet weiter zu bearbeiten.

Weitere Mitteilungen über Cladothrix dichotoma und odorifera.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität München.]

Von

Dr. W. Rullmann

in

München.

Ohne vorläufig auf die in dem neuen Werke von Lehmann und Neumann — Bakteriologische Diagnostik — erfolgte Neubenennung der bisher den Cladothricheen zugeteilten Arten dicho-

toma Günther und odorifera Rücksicht zu nehmen, bringe ich nachstehend die Resultate meiner neueren Versuche:

Die bereits in meiner ersten Arbeit[1]) über Cl. odorifera hervorgehobene starke Nitrifikationsfähigkeit hat bei im Gange befindlichen Fehlboden- und Bodenprobenuntersuchungen neue Bestätigung erfahren; ich fand zwei Cladothrix-Arten nebeneinander, welche, wahrscheinlich in Symbiose mit anderen Bakterien, innerhalb 4 Wochen 5 cg Ammonsulfat in 20 ccm mineralischer Nährlösung (nach Winogradsky) so vollkommen umgewandelt hatten, daß keine Spuren von Ammonsulfat und salpetriger Säure mehr nachweisbar waren, dagegen eine Nitratreaktion von solcher Stärke, daß erst nach zwanzigfachem Verdünnen mit Wasser Durchsichtigkeit eintrat.

A. Ernährung und Wuchsform.

Um über die morphologischen Details, wie echte und unechte Verzweigung, Pleomorphismus und allfallsige pathologische Wuchsformen weiteren Einblick zu gewinnen, wurden außer den früher benutzten Nährböden noch Bierwürze, Milch, Zuckerbouillon, verdünnter Kleister, Semmel- und Erbsenbrei, sowie Bouillon und Muskelfleisch benutzt. Auf allen, mit alleiniger Ausnahme von Bierwürze, reichlichstes Wachstum der odorifera in ihren verschiedenen Entwickelungsstadien unter starker Erdgeruchbildung; Cl. dichotoma wuchs ebenso gut, bildete jedoch nur auf Semmel- und Erbsenbrei Erdgeruch. Verzweigung in beiden Fällen war als echte anzusehen; in zweifelhaften Fällen dürften abgerissene Fadenstücke den Grund zur Täuschung geben.

Zur Erkenntnis, ob veränderte Wachstumsverhältnisse, resp. Berührung mit Luft morphologischen Einfluß ausüben würden, gab ich eine geringe Menge (etwa 5 ccm) Cladothrix-Bouillonkultur in einen 100 ccm-Cylinder und ließ solchen, an einer Turbine befestigt, etwa 50 Drehungen in der Minute machen. So 24 Stunden mit Luft geschüttelt, ergab sich anfangs geringe Vermehrung, welche sich nach 2 Tagen unter Zusammenballung der Fäden sehr steigerte. Wenn auch nach dieser Zeit viele Fadenstücke abgerissen sichtbar waren, so hatte sich doch keine Aenderung der Form ergeben und die immer auftretenden kreideweißen Oberflächenkolonieen mit ihren Lufthyphen, im wesentlichen aus Kugeln bestehend, in welchen wir die Fortpflanzungsorgane, Konidien, erkennen müssen, bildeten sich, sobald der die Kultur enthaltende Cylinder einige Stunden ruhig gestanden hatte. Mit solchen Oberflächenkolonieen führte ich sofort Versuche zur weiteren Klarlegung der Frage über Pleomorphismus dieses Fadenpilzes aus.

Mit größter Vorsicht nahm ich mittels Platinnadel reine Kugeln aus einem Tropfen der Kultur heraus, prüfte nochmals nach Uebertragung in einen Tropfen steriler Bouillon im hohlgeschliffenen Objektträger und beobachtete auf heizbarem Objekttische. Zunächst zeigte sich beim Beginne morgens lebhafte Eigenbewegung mit Ortsänderung, nachmittags noch das gleiche Bild. Tags darauf aber hatten sich

1) Centralbl. f. Bakteriol. 1895. Referat. p. 884—885.

die einzeln schwimmenden Kugeln in mehr oder minder große Verbände mit lebhafter Bewegung zusammengelegt und begann jetzt das Auswachsen der Kugeln in Fadenstücke, welche sich häufig übereinander lagerten und, während anfangs die Endstücke noch beweglich waren, hatten sich nach 28 Stunden die Fäden stark verlängert und endete die Beweglichkeit mit der eintretenden Verästelung. Innerhalb 36 Stunden war der Wachstumsprozeß als vollendet anzusehen. Die erhaltenen Präparate bezeugen die verschiedenen Stadien und bestätigen aufs neue die Angaben von Winogradsky, Kurth, Büsgen u. A. Hier darf ich wohl noch anführen, daß die Scheidewände bei den älteren Kulturen besser als bei den jüngeren hervortreten.

In den oben angeführten Konidien haben wir jedenfalls die Erklärung für die so außerordentliche Widerstandsfähigkeit der Cladothrix zu suchen.

So hatte ich eine am 11. Januar 1894 auf sterilem Sand + Bouillon angelegte Kultur bei Seite gestellt; sie war am 1. Juni 1895, also nach $16^1/_2$ Monaten, ganz eingetrocknet und nur noch Reste von Kolonieen waren sichtbar. Ich gab einige ccm sterilen Wassers darauf und ließ abermals stehen, bis ich am 16. Dezember 1895 einen ccm aufstehender Flüssigkeit auf Bouillon übertrug und nach wenigen Tagen reichlichstes Wachstum und Erdgeruch konstatieren konnte.

Die Resistenz, auch bei ungünstigster Ernährung, führte mich zu Versuchen mit Chemikalien und energischen Desinfektionsmitteln. Oberflächenkolonieen wurden in sterilem Mörser mit den betreffenden Lösungen verrieben, 2 Stunden lang bei 37° C erwärmt und im ganzen 24 Stunden der Einwirkung ausgesetzt. Von den sich abgesetzt habenden Kolonieen wurde die Flüssigkeit dekantiert, mehrmals mit sterilem Wasser ausgewaschen und dann wurden Platten gegossen. Es zeigte sich, daß selbst nach solcher Behandlung der Erdgeruch noch nicht zerstört war; der Einfluß auf Fortentwickelung war jedoch, wie nachstehend ersichtlich, verschieden:

1) gesättigte Chlornatriumlösung . .	Platten, nach 48 Std. entwickelten	zahllose Kolonieen, verzweigte Fäden,
2) 1 Proz. Karbolsäure		einige " " "
3) 5 " "		wenige " " "
4) $^1/_{10}$ Schwefelsäure		nur eine einzige Kolonie, ebenso Fäden,
5) $^1/_{10}$ Silbernitrat		einige Kolonieen, Form wie bei I,
6) 5 Proz. Ammonpersulfat		" " " " " "
7) $^1/_{1000}$ Sublimat		" " " " " "

Da sich auch bei diesen Versuchen keine pathologische Beeinflussung der Wuchsformen ergab, so wurden noch Kulturen auf nachfolgenden Nährböden angestellt:

1) 2 ccm defibriniertes Blut,
   8 ccm steril. destill. Wasser;
2) 2 ccm defibriniertes Blut,
   8 ccm Fleischwasser-Peptonbouillon;
3) defibriniertes frisches Blut, unverdünnt;
4) " " " 30 Minuten auf 55° C erhitzt, also inaktiv, unverdünnt.

Im Brütschranke bei 37° C mehrere Tage belassen, ergab sich zunächst keinerlei Vermehrung und auch keine Formänderung; das

gleiche Resultat am 6. Tage, meist sogar nur schwach färbbare Fadenreste. Am 10. Tage aber waren kaum noch Spuren von Fadenresten vorhanden.

Während nun auf Loeffler's erstarrtem Blutserum, wohl seines Zuckerzusatzes halber, Cladothrix sehr gut wächst, war bei den angeführten Versuchen das Gegenteil der Fall und dürfte wohl der Eiweißgehalt schädigend, ja sogar tötend gewirkt haben. Versuche hierüber stehen noch aus[1]).

Ungemein wachstumfördernd wirken Zusätze von Zucker zu Bouillon und Erbsenbrei; am günstigsten Zugaben von 1, 5 und 10 Proz., und hier war Milchzucker wieder geeigneter als Rohr- und Traubenzucker. Größere Mengen von 20, 30 und 50 Proz. wirkten ungünstig und die letztere Menge läßt überhaupt keine Entwickelung mehr zu; so war auch bei niederem Zuckergehalte die Erdgeruchbildung am stärksten und ging mit steigendem Gehalte zurück.

Ein vorzüglich fördernder Nährboden ist 1-proz. Peptonwasser + 0,5-proz. Chlornatrium.

B. Tierversuche.

Zur Prüfung der Pathogenität waren zunächst Mäusen je 1 ccm einer 8 Monate alten und anderen ebenso viel einer ganz frischen Cladothrixbouillonkultur in die Gegend der Schwanzwurzel eingeführt worden, ein Meerschweinchen erhielt 2 ccm der letzteren Kultur intraperitoneal injiziert. Beide Tierarten blieben gänzlich unbeeinflußt; es wurden daher zur weiteren Feststellung nochmals Versuche angestellt, um zu sehen, ob größere Mengen injiziert vielleicht doch eine Störung im Allgemeinbefinden hervorbringen würden und ferner, wie Cladothrix selbst sich bei dem Prozesse verhalte. Hierzu entfernte ich von ganz besonders gut entwickelten Bouillonkulturen durch Passieren eines sterilisierten Mullstückes den größten Teil der Kolonieen; von dieser Bouillon wurden einem Kaninchen von 2390 g Körpergewicht 8 ccm intravenös und 4 ccm intraperitoneal, einem Meerschweinchen von 635 g Gewicht 10 ccm intraperitoneal eingespritzt. Nach einigen Tagen begann bei verminderter Freßlust Abmagerung, welche nach 10 Tagen bei dem ersten Tiere einen Verlust von 595,0 und bei dem zweiten Tiere von 174,0 herbeiführte.

Aus dem Abdomen des Meerschweinchens wurde am 2. Tage nach der Impfung mittels steriler Glaskapillare eine geringe Menge Flüssigkeit entnommen, welche eine reichliche Ansammlung von Leukocyten mit mannigfachen Bildern von Phagocytose zeigte.

Daneben fanden sich auch noch unverzehrte Reste von Cladothrix; hiervon angelegte Platten ergaben reine Cladothrixkolonieen. Am 11. Tage wurde das Tier getötet; in dem im Bauchraume vorhandenen Exsudate zeigten sich noch einzelne verzweigte Fäden, das Herzblut erwies sich frei von Cladothrix.

Dem Kaninchen wurde am 8. Tage nach der Injektion aus der Ohrvene eine kleine Quantität Blut steril entnommen; auch hier fanden sich keinerlei Spuren der einverleibten Cladothrixkultur mehr vor

1) Inzwischen ergab sich, daß bei niederer Temperatur (+ 22° C) das Wachstum ein vorzügliches war.

und die Anzahl der weißen Blutzellen erschien nicht unbeträchtlich vermehrt. Am 10. Tage nach der Einspritzung wurde das Tier getötet. Die obenerwähnte Abmagerung erschien besonders ausgeprägt an Rücken- und Nackenmuskulatur.

In der Bauchhöhle fanden sich 6—8 ccm klaren Exsudates, welches stark zur Gerinnung neigte. Dieses Exsudat zeigte zwar noch die verschiedenen Entwickelungsstadien der Cladothrix, jedoch keine frisch verzweigten Fäden. Die inneren Organe des Kaninchens erwiesen sich als normal, jedoch etwas blutleer, schlaff und im Beginne der Atrophie. Das Blut des getöteten Tieres war Cladothrix-frei.

Wenn wir nun auch in diesen beiden letzten Fällen einen Einfluß der Cladothrix auf das Allgemeinbefinden der Tiere zu konstatieren haben, so dürfte solches wohl auf das Einführen der doch beträchtlichen Menge Bouillonkultur und deren mögliche Stoffwechselprodukte zurückzuführen sein, waren doch bei den ersten Versuchen die Tiere durch die eingeführten geringen Mengen in keiner Weise gestört worden.

Ferner ersehen wir, daß die beiden Exsudate auf die Ernährung des Fadenpilzes keinen so ungünstigen Einfluß als das Blut ausübten; hier war die vernichtende Wirkung desselben eine sehr prompte und stimmen in dieser Beziehung die Resultate im Tierkörper vollkommen mit den obigen in vitro überein.

C. Gewinnung des Riechstoffes.

Hierzu legte ich in großen, weithalsigen Flaschen auf 1-proz. Milchzuckerbouillon Kulturen an, welche nach dreiwöchiger kräftigster Entwickelung und intensiver Geruchsbildung 3 Liter zur Verarbeitung geeigneter Bouillon ergaben. Die Destillation erfolgte im Vacuum zwischen 25—30° C; die zuerst übergegangenen ca. $1^1/_2$ Liter wurden gesondert aufgefangen. Geruch sehr stark, Reaktion neutral. Der Nachlauf kam, weil fast geruchlos, nicht zur Verwendung. Das Destillat wurde mit ganz reinem Aether ausgeschüttelt und nach Abscheidung der wässerigen Flüssigkeit, welche völlig geruchfrei geworden war, überließ ich den Aether staubgeschützt der freiwilligen Verdunstung. Während sich hierbei die Laboratoriumsräume mit sich steigerndem Erdgeruche erfüllten, mußte ich leider wahrnehmen, daß so kein Resultat zu erzielen sei; es hinterblieb nicht die geringste Menge einer allenfalls dicklich-öligen Flüssigkeit, sondern nur einige haarfeine, nadelförmige Kryställchen befanden sich in der Glasschale. Der geringen Menge halber konnten sie nur spektroskopisch untersucht werden und zeigten, daß sie doppeltbrechend seien.

Wenn auch etwas entmutigt, begann ich nach Anlegung frischer Kulturen mit gleicher Menge Versuchsmaterial eine zweite Destillation. Jetzt nahm ich probeweise einen Teil des Destillates mit der Hälfte Alkohol auf; nachdem im Vakuum bei 24° C die Destillation begonnen, steigerte ich rasch bis 34° C und ließ 400 ccm übergehen. Reaktion leicht sauer; 50 ccm Destillat mit 0,1 ccm $^1/_{10}$ NaHO + Phenolphtaleïn wurden jedoch schon beim ersten Tropfen NaHO rot. Dann habe ich noch 300 ccm abermals mit Aether ausgeschüttelt und im Vakuum unter energischster Eiskühlung ganz langsam destilliert.

Dieses Destillat mit $AgNO_3$ versetzt, ergab keine Aldehydreaktion, mit Lackmus leichte Rötung. Auch die hieraus erhaltenen Kryställchen ließen ihrer zu geringen Menge wegen nur Doppelbrechung konstatieren.

Zweifellos sind bei den Destillationen durch die saugende Wirkung des Wasserstrahles nicht allein große Mengen von Aether und Alkohol, sondern auch des Riechstoffes verloren gegangen.

Auch diesmal ist mir also die Isolierung des Riechstoffes nicht gelungen, ebenso wenig war der Körper chemisch faßbar; doch haben wir ein Analogon in dem so intensiven Veilchengeruche. Auch hier bedurfte es jahrelanger Arbeit zur Isolierung.

D. Ueberführung der Cladothrix dichotoma Günther in odorifera.

Zur Charakteristik beider führe ich zunächst an, daß erstere sehr lange die Fähigkeit, Gelatine zu bräunen, ja sogar ganz schwarz zu färben, beibehält; die odorifera aber variiert insofern hiervon, daß, manchmal direkt aus Erde reingezüchtet, gar keine Farbenänderung der Nährgelatine eintritt, ebenso häufig aber ein leichtes Bräunen, welches beim Uebertragen sich meist bald ganz verliert.

Nachdem ich im verflossenen Winter in einer Erde aus Weilheim auf einer Platte gleichzeitig die oben angeführten Arten in Kolonieen angetroffen hatte, zeigte sich derselbe Befund bei einer Erdprobe vom Maximilianplatze aus der nächsten Nähe der hier im Juni 1896 freigelegten Kapuzinergräber.

Indem uns hier die Natur zeigte, daß die beiden Arten nebeneinander bestehend ihre charakteristischen Eigenschaften bewahren können, ergaben die Versuche in vitro die Möglichkeit der Ueberführung, welche jedoch keine morphologische Aenderung mit sich bringt, sondern nur die chemisch-biologischen Eigenschaften betrifft.

Zunächst bestätigte sich die Annahme, daß allein durch Ueberimpfen auf immer neue Nährgelatine ein Abschwächen der Farbstoffbildung von dichotoma eintreten würde, nicht. Dann ließ ich auf Cl. dichotomakulturen verschiedene Wärmegrade bis zu 37° C einwirken, doch trat auch hier erst nach einiger Zeit (15—25 Tage) und nicht immer gleichmäßig Farbstoffverringerung ein. Am raschesten aber kam ich bei Verwendung möglichst alter Kulturen zum Ziel. Diese Uebertragungen bildeten auf Nährgelatine meist keine Spur von Farbstoff mehr, jedesmal gelang aber die Erzeugung von starkem Erdgeruche auf kohlenhydrathaltigen Nährböden und ganz besonders auf Semmelbrei und verdünntem Kleister. Auch hier bekamen die Oberflächenkolonieen mit den Lufthyphen das häufig erwähnte kreideweiße Aussehen, so daß die ursprüngliche dichotoma Günther von der jetzt geruchbildenden nicht mehr zu unterscheiden war.

So wie in vitro verläuft sicherlich auch dieser Prozeß in der Natur; der Erdboden in seiner wechselnden Zusammensetzung bietet den genannten Cladothrix-Arten Gelegenheit zu der ihnen passenden Ernährung und Angewöhnung, und so können wir uns denn auch den durch die odorifera erzeugten und so häufig wahrnehmbaren Erdgeruch erklären.

München, 1. Oktober 1896.

Ueber Säureabnahme im Wein.

Von

H. Müller-Thurgau.

In No. 19 dieses Centralblattes veröffentlichte Iwan Schukow die Resultate einer unter Wortmann ausgeführten Untersuchung über den Säureverbrauch der Hefen. In dieser Arbeit haben meine Veröffentlichungen eine Darstellung gefunden, die geeignet ist, sie in ganz falschem Lichte erscheinen zu lassen, und es könnte dies um so eher gelingen, als diese Publikationen zum Teil wohl nur wenigen Fachgenossen im Original zugänglich sind.

Im Herbste 1884 wurde in der Domänenkellerei in Erbach mit Weinen aus dem berühmten Domänengute Steinberg ein Versuch über den Einfluß der Temperatur auf die Entwickelung und Qualität des Weines begonnen, und zwar mit 8 Faß Wein à 600 Liter. Vier Faß lagen in einem Keller bei 10 ° C, 4 weitere mit genau den gleichen Traubenmosten gefüllt in einem zweiten heizbaren Keller bei 20 ° C. Der Gärvorgang wurde von Domäneninspektor Czéh genau verfolgt und die Weine von mir untersucht, und zwar nach jedem der 4 Abstiche. Gleichzeitig gelangte dann jeweilen auch die bis zu dem betreffenden Abstiche abgesetzte Hefe zur Untersuchung. Die wissenschaftlichen Resultate dieser Arbeit sowie die Angaben über die Entwickelung und den Erlös der Weine, welch letzterer als Maßstab für die Qualität gelten kann, finden sich im „Weinbau und Weinhandel". 1888. No. 14 und 15 veröffentlicht; hier möge nur das Verhalten der Säure kurz erwähnt sein.

Wie aus den Untersuchungsergebnissen hervorgeht, haben sämtliche Weine bei der Gärung, d. h. bis zum ersten Abstiche eine Säureabnahme erfahren, ohne daß sich dabei jedoch ein wesentlicher Einfluß der Temperatur beobachten ließ. Der Säuregehalt hat im Durchschnitt um 0,38 g pro Liter abgenommen. Da bei der Gärung aber auch Bernsteinsäure gebildet wird, war der eigentliche Verlust größer; doch läßt sich aus den Ergebnissen nachträglich nicht feststellen, wie sich dieser Verlust auf die Thätigkeit der Hefe und auf die beträchtliche Ausscheidung von Weinstein verteilt. Es wurde übrigens dieser bei der Gärung stattfindende Säureverlust in der Abhandlung nicht weiter erörtert.

Die die Säure betreffenden Ausführungen beziehen sich auf eine ganz andere Erscheinung, nämlich auf die interessante Thatsache, daß in den nahezu klaren, schon dreimal von der Hefe abgezogenen Weinen eine ganz beträchtliche Säureabnahme eintrat. Nach dem zweiten Abstiche im Frühjahr 1885 fand noch eine Nachgärung statt; allein dieselbe war nur von einem kaum nachweisbaren Säureverlust begleitet. Im Herbste 1885 war der Wein nahezu klar; er wurde von der Hefe abgezogen und blieb bis zum Herbste 1886 in sorgfältig voll gehaltenen Fässern liegen. In dieser Zeit nun fand in 7 Fässern die auffallende Säureabnahme von durchschnittlich 1,56 g pro Liter

statt, nämlich von 7,94 ‰ auf 6,38 ‰. Die Weine haben also in dieser Zeit nahezu 20 Proz. ihres Säuregehaltes verloren. Dieser Verlust kann weder durch Hefe noch durch Weinsteinausscheidung verursacht worden sein. Die schon vorher nahezu hellen Weine klärten sich in dieser Zeit vollständig, enthielten also keine suspendierte Hefe und der gesamte nach dem 4. Abzug zu gewinnende Trub wog im getrockneten Zustande nach Abzug des Weinsteins pro Faß nur 2 g.

Da also sozusagen keine Hefe sich vorfand, da die Weinsteinausscheidung jedenfalls nur gering war, was aus dem Gleichbleiben des Aschengehaltes der Weine zu erkennen ist, so mußte der Säureverlust eine andere Ursache haben. Da konnte denn in erster Linie an einen Einfluß des Luftsauerstoffes gedacht werden, der erst nach mehrmaligem Abstich recht zur Geltung kommen kann; doch habe ich diese Vermutung mit aller Reserve ausgesprochen.

Aehnliche Versuche mit 1885er Steinberger Wein [1]), die ebenfalls bezweckten, den Einfluß der Temperatur auf die Gärung und weitere Entwickelung des Weines zu erforschen, ergaben eine Bestätigung der oben erwähnten Beobachtungen, indem während der Gärung bis zum ersten Abstich eine Säureabnahme um 1,7 ‰ stattfand und dann eine deutlich davon getrennte nochmalige Abnahme erst nach dem zweiten und dritten Abstich, also in dem von der Hefe getrennten Wein, und zwar um 3,4 ‰. Besonderes Interesse bietet diese zweite Versuchsreihe noch, weil trotz gleicher Behandlung nur ein Teil der Weine eine so starke zweite Säureabnahme aufwies.

Eine andere, an gleicher Stelle erfolgte Mitteilung über Säureabnahme bezog sich auf Pfälzer Weine, bei welchen während und nach der Gärung überraschend große Säureverluste beobachtet worden waren, so z. B. eine Abnahme von einem anfänglichen Säuregehalt des Mostes von 11,5 ‰ auf 5,6 ‰ im Wein, oder von 8 ‰ auf 3,7 ‰ etc., also Verluste von 50 und mehr Prozent der Gesamtsäure. Derartige Säureabnahmen hatte ich bei meinen zahlreichen Gärversuchen mit reinen Hefen niemals beobachten können und mußte daher eine anderweitige Ursache in Betracht ziehen. Da es mir nicht gelang, bei ähnlichen Weinen durch Luftzufuhr eine nennenswerte Säureabnahme zu erzielen, in solchen aber mehrmals Bakterien in großer Zahl vorgefunden hatte, sprach ich die Vermutung aus, es möchten solche bei der Säureabnahme mitgewirkt haben, habe aber dabei ausdrücklich betont, daß meine damals vorliegenden Versuchsergebnisse nicht imstande seien, die Frage zum Abschluß zu bringen.

Bei meinen späteren Untersuchungen über die mannigfaltigen Unterschiede zwischen den verschiedenen Heferassen ergaben sich auch Differenzen hinsichtlich der Säureabnahme während der Gärung oder direkt nach derselben [2]), und es stellte sich ferner heraus, daß

---

1) H. Müller-Thurgau, Ergebnisse neuer Untersuchungen auf dem Gebiete der Weinbereitung. (Bericht über die Verhandlungen des Weinbaukongresses in Worms. 1891. p. 148 ff.)

2) Müller-Thurgau, Ueber neuere Erfahrungen bei der Anwendung von Reinhefen in der Weinbereitung. (Weinbau und Weinhandel. 1895. No. 40—42. — Schweizerische Zeitschrift für Obst- und Weinbau. 1895. p. 276 ff.)

diese Erscheinung mit Lebensvorgängen der Hefe im Zusammenhang steht. Es stimmen diese Ergebnisse mit den von Kulisch und Wortmann gewonnenen überein. Ich habe dieselben jedoch niemals auf jene früher dargelegten Erscheinungen einer starken Säureabnahme in ausgegorenen, von der Hefe abgezogenen Weinen bezogen und es beruht also auf einem Irrtum, wenn in der von der pflanzenphysiologischen Versuchsstation Geisenheim ausgehenden Mitteilung gesagt wird, ich hätte meine frühere Ansicht fallen lassen. Im Gegenteil hebe ich nochmals hervor, daß in den erwähnten Versuchen mit Steinberger Wein nicht Hefe die Ursache der besprochenen Säureabnahme sein konnte. Ebenso sind auch die herangezogenen Versuchsergebnisse von Kulisch nicht imstande, hinsichtlich jener nachträglichen Säureabnahme etwas Gegenteiliges zu beweisen; sie wurden ja auch zu einem ganz anderen Zwecke angestellt.

Wädensweil, 14. November 1896.

Referate.

Richards, Ellen, H. and Rolfs, G. W., Reduction of nitrates by bacteria and consequent loss of nitrogen. (Tech. Quart. Vol. IX. 1896. No. 1. p. 40—59).

Die Verff. machen Mitteilung über Stickstoffbestimmungen in verschiedener Form zu verschiedenen Zeitpunkten in mehr als 25 Lösungen, die größtenteils so hergestellt waren, daß sie die typischen Bedingungen eines mit in Zersetzung begriffener organischer Substanz verunreinigten Wasser boten, das gleichzeitig Nitrat enthielt. Diese Lösungen wurden durch Mischen von frischen Abwässern mit ihren gereinigten Abflüssen hergestellt. Sie enthielten in der Regel wenig Mineralsubstanzen, waren frei von Urin und enthielten in den meisten Fällen etwas Zucker.

Es wurden gleichmäßig folgende Veränderungen in den Lösungen festgestellt:

1) Ein rasches Verschwinden der Nitrate; nach drei Tagen waren gewöhnlich noch nicht mehr 10 Proz. derselben vorhanden;

2) eine dementsprechend rasche Zunahme der Nitrite, die gewöhnlich nach 2—3 Tagen ihr Maximum erreichten und dann rasch verschwanden;

3) das Auftreten eines grünen Pflanzenwuchses, verbunden mit dem Wiederauftreten der Nitrite;

4) ein allmähliches Wiederauftreten sehr kleiner Nitratmengen.

Die Untersuchung einer Lösung, die ein ungewöhnlich lebhaftes Algenwachstum zeigte, ergab die Anwesenheit folgender Organismen:

Cosmarium	44 000	im ccm
Raphidium	3 100	„ „
Scenedesmus	23 000	„ „
Protococcus	42 000	„ „
Zooglöenmassen	2 800	„ „
Infusorium (Monas)	250	„ „

Was die Frage anlangt, ob die Organismen, die die Reduktion der Nitrate lediglich veranlassen, von mineralischer Nahrung bestehen können, so wurde ermittelt, daß in Lösungen, die außer der im Wasser natürlich vorkommenden keine andere organische Substanz enthielten, die Reduktion nur sehr langsam und unvollständig vor sich ging.

Eine Untersuchung über die Natur der von diesen Organismen verlangten Nahrung ergab, daß Milch sehr günstig für sie war, während die Reduktion sehr langsam vor sich ging in Lösungen, denen Blut zugegeben war.

Eine Prüfung der in der Flüssigkeit gelösten und während des Versuchs gebildeten Gase ergab zweifellos, daß der Stickstoff, der aus den Nitraten verschwunden war, schließlich in freiem Zustande abgegeben wurde. Zusatz von 2 ccm Glycerin zum Liter Versuchsflüssigkeit war sehr geeignet, einen beträchtlichen Teil dieses Stickstoffes zu fixieren.

Die Verff. ziehen aus ihren Versuchen folgende Schlüsse:

Wenn Nitrate mit zersetzbarer, nicht steriler, organischer Substanz gemischt werden unter solchen Bedingungen, daß das Wachstum der Bakterien mehr Sauerstoff verlangt, als die Lösung gewährt, dann nehmen die Pflanzen ihn aus den Nitraten, die in Nitrite und später in freien Stickstoff übergehen. Das Verständnis dieses Vorganges ist für den Landwirt, insbesondere für den Berieselungsfarmer von hoher Wichtigkeit, da leicht sämtlicher Stickstoff durch eine unkluge Nährstoffzugabe verloren gehen kann. Um die Nitrate schon im Boden zu schützen, muß das Rieselwasser nur in so dünnen Schichten aufgetragen werden, daß es unter den günstigsten Verhältnissen mit der Luft in Berührung kommt. Eine Lüftung durch Einblasen von Luft in das Rieselwasser ist nutzlos. Jedoch selbst unter den günstigsten Bedingungen ist der Erfolg einer Stickstoffzugabe ein höchst zweifelhafter. Am thunlichsten ist es, mit dem Stickstoff in der Weise hauszuhalten, daß man ihn der wachsenden grünen Pflanze giebt so schnell als sie ihn verbrauchen kann, anstatt die stickstoffhaltigen Mittel vorher in den Boden zu geben und sie hier durch die ungezählte Menge von Stickstoff liebenden Bakterien zu gefährden. Trotz der Lüftung scheinen einige fermentative Organismen ihren Bedarf an Sauerstoff lieber aus dessen stickstoffhaltigen Verbindungen zu decken, was Stickstoffverlust im Gefolge hat, was gar nicht zu vermeiden ist, wenn eine Lösung, enthaltend gewisse organische Stoffe, einem bereits mit Nitraten versehenen Boden oder Wasser zugeführt wird. W. Windisch (Berlin).

De Seynes, J., Résultats de la culture du Penicillium cupricum Trabut. (Bulletin de la Soc. Bot. de France. T. XLII. p. 451 ff. u. 482 ff.)

Das von Trabut[1]) gefundene Penicillium cupricum ist nach den Untersuchungen des Verf.'s ein Penicill. glaucum, welches unter der Einwirkung der Kupfersulfatlösung die Farbe seiner Konidien verändert hat. Das Mycelium (von einer von Trabut an den Verf. eingesandten Probe stammend) entwickelte, in ein normales Substrat versetzt, weniger Reproduktionsorgane, nicht infolge der Einwirkung der Cu-Vitriollösung, sondern auf Grund des besseren Nährbodens, eine Eigentümlichkeit, die wohl bekannt ist. — Da Verf. keine weiteren charakteristischen Versuche infolge des zu geringen vorhandenen Materials anstellen konnte, so machte er direkt Versuche mit den Sporen von Penicill. glaucum in Lösungen von verschieden hohem Gehalt an $CuSO_4$.

Drei Proberöhren wurden mit einer Abkochung von Gerste gefüllt und je mit $2\,^1/_2$, 5 und $9\,^1/_2$ $^0/_0$ $CuSO_4$ versetzt. 3 Vergleichstuben wurden ebenso beschickt, nur war das $CuSO_4$ durch $FeSO_4$ ersetzt worden. Nachdem der Inhalt der Tuben mit reinen Konidien von Penicill. glaucum Lk. bestreut worden war, zeigten sich nach Verlauf von 5 Tagen in Tube No. I Flocken des Myceliums, welches nach einem Monat sich nur wenig vergrößert hatte. Auch zeigte das Stroma nicht die Bildung des von Trabut eingesandten Musters und ist der Grund wahrscheinlich in dem verschiedenen Grade der Reinheit des verwendeten Cu-Salzes zu suchen. Tube No. II zeigte größere Hyphen, allein das Mycelium blieb zurück und bildete nach 35 Tagen kein Stroma. Der Gehalt an $CuSO_4$ der Tube III scheint die Grenze zu sein, über welcher jede Entwickelung unmöglich ist. Mit freiem Auge war nach einigen Tagen kein Mycelium zu entdecken. Nach 14 Tagen zeigte sich ein leichter Anflug auf der Oberfläche und am Rand der Flüssigkeit ein schmaler rötlich gefärbter Ring. Hier erreichte der spärliche Wuchs sein Maximum und kommt überhaupt nur dadurch zustande, daß die verdunstende Flüssigkeit benutzt wird, ohne daß das Stroma in Berührung mit $CuSO_4$-Lösung kommt. Die Hyphen zeigen einen klaren Zellsaft mit Reihen von Fetttröpfchen. Die Konidien sind graurosa gefärbt und einer einfachen Dolde vergleichbar. Die intracellulare Entwickelung ist gut sichtbar. Der Durchmesser der reifen Konidie ist nur wenig größer als der der Mutterzelle. In den Tuben, welche mit $FeSO_4$ versetzt waren, entstand kein Mycelium. Es waren die Konidien getötet worden. Verf. wird seine Versuche fortsetzen. Chimani (Poln.-Ostrau).

Ritthausen, H. und Baumann, Ueber Zerstörung von Fett durch Schimmelpilze. (Landwirtschaftl. Versuchsstationen. Bd. XLVI. 1896. Heft 4/5. p. 389—390.)

Einem von Reitmair mitgeteilten Fall ähnlich, vermochten Verff. in zwei Rübsenkuchenproben nach zweijähriger Pause eine Verringerung des Fettes zu konstatieren.

Im Jahre 1890 ergab die Analyse für Probe

1) Ref. bereits erschienen.

	I	II
Wasser	12,45 Proz.	12,31 Proz.
Asche	6,82 „	7,28 „
Fett	10,53 „	8,50 „
N	5,13 „	4,86 „

Nach zweijährigem Lagern stellten sich die Verhältnisse folgendermaßen:

Wasser	21,94 Proz.	23,42 Proz.
Fett	1,98 „	1,87 „
N	5,15 „	5,12 „

Der Gehalt an Wasser hatte mithin um 9,49, bezw. 11,11 Proz. auf Kosten des um 8,55 und 6,64 Proz. verringerten Fettes zugenommen.

95 Bakterien und Pilze sind isoliert worden, doch konnte wegen Unterbrechung der Arbeit die Frage über den Einfluß der gefundenen Gärungserreger bei Zersetzung der Fette noch keiner endgiltigen Entscheidung zugeführt werden. E. Roth (Halle a. S.).

Leichmann, G., Die Benennung der Milchsäurebacillen. (Zeitschrift für Spiritusindustrie. Jahrg. XIX. 1896. No. 38. p. 305.)

Verf. hatte in seiner im Centralbl. für Bakt. erschienenen Abhandlung bemerkt, daß die charakteristischen Stäbchen der in der Brennereipraxis sogenannten reinen Milchsäuregärung seines Wissens noch nicht rein kultiviert und in ihren morphologischen und physiologischen Eigenschaften nicht näher beschrieben seien.

Behrend-Hohenheim hatte entgegnet, daß zwei Veröffentlichungen über den Gegenstand vorliegen, was Verf. zugiebt mit dem Bemerken, daß die eine erschienen sei, während sein Manuskript bereits abgeliefert war, während die andere im Ergänzungsheft der Zeitschrift für Spiritusindustrie übersehen sei, da sie weder im Gesamtregister des Jahrganges, noch in dem spezielleren Inhaltsverzeichnis des Ergänzungsheftes angekündigt war.

Zur Sache ist zu bemerken, daß Lafar im Ergänzungsheft den Mikroorganismus als Bacillus acidificans longissimus bezeichnete und Behrend es für wahrscheinlich hält, daß dieser Organismus mit dem von Leichmann als Bacillus Delbrückii genannten identisch ist, während Leichmann dieses als eine Vermutung bezeichnet.

Seine Behauptung will Leichmann nun folgendermaßen abfassen: Nach einer Mitteilung von Behrend ist in der Versuchsstation für Gärungsgewerbe zu Hohenheim bereits ein Milchsäure bildendes Langstäbchen aus Hefegut, worin es an Individuenzahl ca. 90—95 Proz. aller vorhandenen Mikroorganismen ausmachte, rein gezüchtet worden; doch liegen über die morphologischen und physiologischen Eigenschaften dieser Form keine näheren Angaben vor.

E. Roth (Halle a. S.).

Marpmann, G., Beiträge zur mikroskopischen Untersuchung der Fruchtmarmeladen. (Zeitschr. f. angewandte Mikroskopie. Bd. II. 1896. Heft 9. p. 97—107.)

Verf. weist darauf hin, daß für die Marmeladen sich in dem billigeren Fruchtfleisch der Aepfel und in den noch billigeren Rüben ein Verlängerungsmittel für Erdbeeren, Himbeeren u. s. w. darbietet; auch die Feige wird dazu in großen Quantitäten verwandt. Den Eindickungsprozeß, der Zeit, Feuerung und Material kostet, sucht man zu umgehen, indem man die Säfte künstlich durch Verdickungsmittel fest macht, wozu Gelatine, Agar, Pflanzenschleim, gefällter Pektinstoff aus Himbeersaft, Arabinose, Gelose u. s. w. recht geeignet und vielfach gebraucht wird.

Durch chemische Methoden hält es nicht schwer, die Anwesenheit von Leim, Pektinstoffen und Agar wie Arabinose festzustellen. Die verschiedenen Zuckerarten werden durch Polarisation, Vergärung, Fehling'sche Lösung, Phenylhydrazin bestimmt und die einzelnen Arten als Rohrzucker, Fruchtzucker und Stärkezucker berechnet.

Geringer Gehalt an Agar ist chemisch nicht nachzuweisen, auch durch mikroskopische Reaktionen nicht bestimmbar.

Ueber die Zusammensetzung der Fruchtmarmeladen in Bezug auf die zur Herstellung benutzten Früchte kann die chemische Analyse nur geringe Anhaltspunkte in dem Gehalte an Asche und freier Säure geben. Dagegen hilft die mikroskopische Prüfung, da Epidermis- wie Parenchymzellen der Früchte oft gut erhalten sind, so daß es gelingt, Abstammung und Verfälschung der Konserve festzustellen, auch Kern- und Fruchtsubstanz meist besonders charakteristische Bilder geben.

So zeigt Verf. unter Hilfe von geeigneten Figuren, wie die Steinzellen des Feigensamens so charakteristisch auftreten, daß man hieran auch die Feigenreste in Kaffeesurrogaten leicht erkennen und nachweisen kann.

Die Frucht der Himbeere besitzt ein sklerenchymatisches Gewebe, das sich beim Einkochen nicht konserviert. Der Same ist verkehrt eiförmig, mit spitzem Ende, die verdickten Zellen der Samenschale sind prosenchymatisch, lang, an beiden Enden zugespitzt und nicht wie Stein-, sondern wie Bastzellen verdickt.

Stachel- und Johannisbeeren finden sich namentlich in der teueren Himbeermarmelade. Heidelbeeren zeigen im Gegensatz zu diesen sehr kleinen Samen und die äußere Hülle mit stark verdicktem, bandartigen Verzweigungen der Sklerenchymschicht.

Brombeeren fallen durch ihren gestielten Samen auf.

Erdbeermarmelade ist selten ganz rein; unter den Rindenzellen des Erdbeersamens finden sich eigentümlich spiralig verdickte Zellen, die von dem Fibrovasalstrang herrühren, und durch das Zerdrücken der Samen oft zerrissen und verändert sind. Samen von Himbeeren, Erdbeeren und Brombeeren zeichnen sich durch die Rindenschicht von braungefärbten, langgestreckten, sklerenchymatischen Zellen aus, wodurch andere Beimengungen erkennbar sind.

Die Preißelbeere besitzt ähnlichen Samen wie die Heidelbeere, jedoch sind die Strukturen der Rindenschicht gänzlich verschieden.

Das Mus der Tomate dient vielfach zu Verfälschungen. In solchen findet man dann Reste der äußeren lederartigen, roten Fruchtschale und die charakteristischen hellgelben Samen mit den verdickten Rindenzellen. Von der Skleroidenschicht setzen sich Schleimfäden in das Fruchtfleisch hinein, welche für diese Samen als Erkennungszeichen dienen können.

Fliederbeeren fallen durch den charakteristischen länglichen Samen auf. Zudem wird Saft und Mus mehr für Weine und Liqueure, kondensierte Suppen und englische Gewürzsaucen verwendet, als zu Marmeladen, da die eingekochten Beeren zu dunkel sind. Gewebsreste der Samen kann man mit dem von Himbeeren und Erdbeeren verwechseln, doch ist Farbe und Verdickung der Zellen abweichend.

Die meisten Fragmente von Fruchtschalen in den Marmeladen sind aus dem mikroskopischen Bilde hinreichend erkennbar, wenigstens gelingt es mit Hilfe von richtig bestimmten Vergleichspräparaten stets, die betreffende Fruchtschale zu identifizieren.

Es kann noch darauf hingewiesen werden, daß die Marmeladen aus allen möglichen Preßrückständen von Beerenwein hergestellt werden und daß auch in vielen Fällen die Gegenwart von Stärkezucker nachgewiesen wurde.

Genauere chemische Untersuchungen über dieses Gebiet gedenkt Verf. an anderer Stelle zu veröffentlichen; eine Angabe dieses Ortes ist aber unterblieben. E. Roth (Halle a. S.).

Lagervall, Algot, Grobarhetsförsök med Aerter hvete och råg. (Redogörelse för verksamheten vid Ultuna landtbruksinstitut. År 1895. p. 49—52.)

Verf. vermutete, daß die besonders beim Roggen beobachtete, namentlich in warmen und feuchten Monaten sich schnell verringernde Keimungsfähigkeit mit der Wirkung von Bakterien in Verbindung stehe. Um diese Möglichkeit zu prüfen, wurden gesunde, fehlerfreie Körner von Erbsen, Weizen und Roggen, alle von 1893er Ernte, im Monat Juli 1894 den folgenden Versuchen unterzogen:

Sämtliche zu den Versuchen benutzte Körner wurden sechs Stunden in sterilem Wasser und bedeckten sterilen Gefäßen aufgeweicht. Darauf wurde die äußere Samenschale bei einem Teile der Körner mit einer sterilen Nähnadel gerade durchstochen, um den Infektionsorganismen den Zutritt durch die Schale zu erleichtern. Durch Zerquetschen von Erbsen-, Weizen- und Roggensamen, die bei früheren Keimungsversuchen ungekeimt geblieben und daher mit den schädlichen Bakterien besetzt, anzunehmen waren, wurde das Infektionsmaterial hervorgebracht; dasselbe zeigte einen großen Reichtum an Kokken.

Es zeigten nun die Erbsen- und Weizenkeime vollständig normale Keimfähigkeit, und zwar gleich groß, ob verwundet oder nicht, ob infiziert oder nicht. Für Roggen traten größere Differenzen unter den verschiedenen Gruppen auf, nämlich:

	gekeimt am 13./6.	14./6.	15./6.	16./6.	Proz.
100 Körner heil; ohne Infektion	100	—	—	—	100
100 „ heil; mit „	96	2	—	—	98
100 „ wund; ohne „	96	1	—	—	97
100 „ wund; mit „	18	56	13	4	91

John Sebelien (Aas, Norwegen).

Ravizza, F., Le malattie e i nemici delle viti. (Publicazione del Giornale di agricoltura pratica. Asti 1895. p. 244.)

Das vorstehende Werk ist für den Praktiker des Weinbaues geschrieben. Er soll in den Stand gesetzt werden, alle Schäden, denen der Weinstock durch Insekten, Pilze, Atmosphärilien ausgesetzt ist, kennen zu lernen und mit den einfachsten und wirksamsten Mitteln zu ihrer Verhütung und Bekämpfung vertraut zu werden.

Um besonders die Bestimmung der jeweiligen Krankheit zu erleichtern, geschah die Einteilung des Stoffs in Form eines Monatskalenders. 48 Figuren im Text dienen zur Illustration.

Schmid (Tübingen).

Stoklasa, J., Betrachtungen über Krankheiten der Zuckerrübe in Böhmen 1894—1896. [Mitteilungen aus der Versuchsstation für Zuckerindustrie in Böhmen.] (Zeitschr. für Zuckerindustrie in Böhmen. Bd. XXI. 1896. p. 1.)

I. Parasiten aus dem Pflanzenreiche.

1) Wurzelbrand des Keimpflänzchens. Der Wurzelbrand hat sich beinahe in ganz Böhmen gezeigt, wobei die junge zarte Pflanze zum großen Teil in vielen Gegenden zu Grunde ging. Das bekannte Schwarzwerden der Würzelchen bei dieser Krankheit tritt entweder durch intermolekularen Verlust der Reduktionsmächtigkeit des Protoplasmas oder durch Absterben des Protoplasmas infolge Verletzung der Zellen ein. Die erste Erscheinung stellt sich als interner Brand dar, während die zweite Erscheinung nichts anderes als eine bloße Verletzung ist, welche ein Absterben und Dunkelwerden des Organismus der Wurzel und des Stieles zur Folge hat. Die externe Erscheinung des Schwarzwerdens der Würzelchen tritt durch Verletzung der Zellen im Stengel, in den Blattorganen oder den Würzelchen zu tage. Diesen Prozeß ruft nach Vaňha der Tylenchus, Dorylaimus, Enchytraeus, nach Kühn die Atomaria, ferner eine ganze Reihe von Pilzen bei Prädisposition des Organismus zur Infektion hervor. Jensen nennt als parasitischen Pilz Phytium de Baryanum und nach Frank ist Phoma betae als Ursache des Brandes anzusehen. Nach Stoklasa dringen Pilze und Bakterien nicht (ausgenommen die Rhizoctonien) in den gesunden Organismus der Zuckerrübe ein und äußert namentlich die lebende Pflanzensubstanz den Bakterien gegenüber eine refraktive Wirkung. Soll ein Parasit oder Pilz in das Gewebe des Zuckerrübenorganismus eindringen können, so muß notwendigerweise eine Störung der vitalen Thätigkeit in den lebenden Molekülen und ein geschwächter normaler Assimilations- und Dissimilationsprozeß vorangehen.

2) Rhizoctonia violacea. Die Rhizoctonia gehört zu den gefährlichsten Schädlingen der Zuckerrübenwurzel und überzieht das Mycelium dieses Pilzes die Wurzel mit einem violettroten Ueberzug. Das Mycelium dringt nicht nur in die Peridermis ein, sondern findet auch bei ausgiebiger Feuchtigkeit Eingang in das parenchymatische Gewebe der Wurzel und scheidet Enzyme aus, welche durch energische Zersetzung die Saccharose in Hoxosen umwandelt. Die Zuckerverluste sind daher auch ganz bedeutende. Wenn die Rhizoctonia bereits in den Monaten Mai und Juni auftritt, so bleibt die Wurzel verkümmert und sind auch die Blätter unentwickelt. Nach allen Beobachtungen zu schließen, gehört die Rhizoctonia in Böhmen zu den verbreitesten Parasiten der Zuckerrübe im ganzen Stadium der Entwickelung. Hervorzuheben ist noch, daß die biologische Entwickelung des Pilzes bisher noch nicht erforscht ist.

3) Cercospora beticola Sacc. Auch diese Krankheit, welche die Blätter derartig befällt, daß dieselben gelb werden und abtrocknen, war in Böhmen in bedeutendem Umfange verbreitet. Durch das frühzeitige Absterben der Blätter wird auch die Zuckerbildung erheblich herabgesetzt.

4) Trockenfäule der Zuckerrüben. Diese Krankheit gehört nach Frank und Krüger zu jenen pathologischen Erscheinungen, welche durch den parasitischen Pilz Phoma betae hervorgerufen werden. Nach Vaňha gehört diese Erkrankung in das Wirkungsgebiet neuerer Rübennematoden aus der Familie Tylenchus (s. u.)

5) Peronospora beticula. In einem Felde zeigte sich diese Blattkrankheit Ende Juni und starben die Blätter rapid ab, wobei die Rübe zu Grunde ging.

II. Parasiten aus dem Tierreiche.

1) Die Rübennematoden der Gattung Heterodera Schachtii. Diese Nematoden traten am stärksten in den Niederungen des böhmischen Elbethales auf, wo intensive Rübenkultur betrieben wird. Die Erträge der Rübenfelder sinken in beträchtlicher Weise, außerdem weisen die von Heterodera befallenen Rüben einen weitaus geringeren Zuckergehalt auf als nicht befallene. Die Rübennematoden kommen auch auf Hafer und Weizen in großer Menge vor; einen interessanten Fall beobachtete Stoklasa auch auf Wiesen, wo die Gräser sehr häufig mit Heteroderaweibchen besetzt waren, trotzdem dort nicht Rübenkultur betrieben wurde.

2) Rübennematoden der Familie Tylenchus. Dieselben verursachen nach Vaňha die Trockenfäule der Zuckerrüben, indem sie sich zuerst in das Gewebe der Rübenwurzel einbohren und die vitalen Prozesse des Pflanzenorganismus stören, welcher dann ungewöhnlich rasch zur Pilzinfektion incliniert. In Böhmen kommen die Tylenchus sehr häufig vor.

3) Rübennematoden der Familie Dorylaimus. Auch diese Nematoden, die mit ihrem mächtigen Stachel die Würzelchen der Zuckerrübe verletzen und aussaugen, traten verheerend in Böhmen auf.

4) Enchydraidae. Dieselben sind nach Vaňha zu den gefährlichsten Schädigern der Zuckerrübe zu zählen und entfalten sie schon eine besonders verheerende Thätigkeit durch Ausfressen der keimenden Samen, wodurch die weitere Entwickelung der Pflanze beeinträchtigt wird. Weiter verursachen die Enchytraeiden ebenso wie die anderen Nematoden allgemeine Erkrankungen dadurch, daß sie die Wurzelhärchen verzehren und vernichten und die Assimilation anorganischer Nährstoffe aus dem Boden verhindern.

Außerdem hat Verf. in den Jahren 1894/96 noch folgende Parasiten aus dem höheren Tierreiche in Böhmen beobachtet: Tausendfüßler, Anthomyia conformis, Jassus sexnototus, Blattläuse, Agrotis segetum, Plusia gamma, Melolontha vulgaris, Elater, Atomaria linearis, Haltica oleracea, Silpha atrata, Cleonus punctiventris und Tenebrio molitor (in Knäulchen gelagerten Rübensamens).

III. Diverse Krankheiten.

1) Albinismus der Blätter. Ueber die Ursachen des Albinismus der Blätter ist nichts Sicheres bekannt, doch ist wahrscheinlich, daß die Störung vitaler Prozesse in einer bestimmten Blattpartie durch eine cellulare Erkrankung hervorgerufen wird. Die mit Albinismus der Blattsubstanz behafteten Blätter enthalten gar keine Chlorophyllkörner. Im allgemeinen ist diese Erscheinung in Böhmen nur sporadisch aufgetreten.

2) Höhlungen in den Wurzeln. Infolge rascher Entwickelung der Wurzel waren im Jahre 1894 in den oberen Wurzelpartieen kleine Höhlungen zu sehen, wobei durch Einwirkung von Mikroben in der Höhlung Zersetzungen eintraten, verbunden mit Verlusten an Saccharose und Ausscheidungen einer violetten Substanz aus der Frucht des Chromogens, welche später eine vollständig rote Farbe annahm. Diese Erscheinung war ungewöhnlich stark in ganz Böhmen verbreitet. Stift (Wien).

Vanselow, Carl, Der Hausschwamm vor dem Forum des Reichsgerichts. (Friedreich's Blätter für gerichtliche Medizin. Jahrgang LVII. 1896. Heft 5. p. 384—390.)

Verf. teilt die Anschauung Emmerich's, daß bei der großen Verbreitung des Hausschwamms auch die angeblich von ihm verursachten Krankheitserscheinungen öfter beobachtet werden müßten, als dies thatsächlich der Fall ist. Hartig-München aß haselnußgroße Portionen des Hausschwammpilzes und seiner Sporen ohne nachteilige Folgen. Gotschlich setzte weiße Mäuse 10 Tage lang in einem Glasgefäß der Wirkung feuchter Luft und großer Massen von Hausschwamm aus, ein Extrakt wurde verschiedenen Tieren eingespritzt, Fütterungsversuche an Tieren und sich selbst vorgenommen, letztere mit haselnußgroßen Stücken, Inhalation von Sporen, selbst Injektion der letzteren in die Venen eines Kaninchens gemacht. Alles ohne Wirkung.

Der dem Holze so gefährliche Hausschwamm ist demnach nur ein bedenkliches Symptom einer übermäßigen Feuchtigkeit der Wände

und der Luft; seine üblen Gerüche können bei sensiblen Personen vielleicht Belästigungen aber keine gesundheitsschädlichen Wirkungen verursachen. Verf. stellt die Möglichkeit einer Gesundheitsschädigung seitens des Hausschwammes in Abrede.

Zu Grunde lag eine Entscheidung des Reichsgerichts, derzufolge ein Bauunternehmer auf Grund des § 360: Wer bei der Leitung oder Ausführung eines Baues wider die allgemein anerkannten Regeln der Baukunst dergestalt handelt, daß hierdurch für Andere Gefahr entsteht, wird . . . bestraft, auch strafrechtlich zur Verantwortung gezogen war.

E. Roth (Halle a. S.).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Marpmann, Ein neues Mikrotom für den praktischen Gebrauch. (Zeitschr. f. angewandte Mikroskopie. Bd. II. 1896. Heft 3. p. 65—68. Mit Abbild.)

Durch eine Tischschraube ist der kleine Apparat an jeder Tischkante zu befestigen. Ganghöhe der Mikrometerschraube 1 mm, Knopf ist groß, in 100 Teile geteilt; durch seitlichen Zeiger, der in die Teilstriche einschnappen kann, ist gleichzeitiges Messen und Markieren der Bewegung hervorzubringen. Ein Nonius am Zeiger dient zum Abmessen kleinerer Intervalle.

Das Präparat wird in eine bewegliche Klammer gespannt, die in doppelter Schlittenführung mit der Triebschraube in Verbindung steht, letztere Verbindung ist durch ein Kugelgelenk bewirkt, so daß die Triebschraube den Schlitten sowohl nach unten wie nach oben bewegen kann. Objektklemme ist leicht aus- und einzusetzen, wodurch die Befestigung des Präparates erleichtert wird.

Zur Herstellung der Schnitte sind einfache Rasiermesser mit plangeschliffener Fläche von 3—4 cm Breite und 12—15 cm Länge zu benutzen.

Regel ist es, alle Präparate feucht zu schneiden, mit Ausnahme der Paraffinblöcke, und das neue Mikrotom bewährte sich für alle Objekte. Nur Gefrierschnitte sind nicht vorgesehen, da diese Methoden im allgemeinen doch seltener vorkommen, und der Gefrierapparat das Instrument verteuern würde.

Preis 20 M. ohne Etui. E. Roth (Halle a. S.).

Ehrlich, Franz, Eignet sich Formaldehyd zur Konservierung von Nahrungsmitteln. [Inaug.-Diss.] 20 p. Würzburg 1895.

Von der chemischen Fabrik auf Aktien (vormals E. Schering) wird eine 40-proz. Formaldehydlösung unter dem Namen Formalin in den Handel gebracht und als Antisepticum wie Konservierungsmittel für anatomische Präparate warm empfohlen. Es wurde von verschiedenen Seiten die Frage laut, ob man Formalin zur Konser-

vierung von Nahrungsmitteln anzuwenden vermöchte. Verf. stellte daraufhin mit einer der bequemeren Handhabung wegen aus dem Formalin 8-proz. Formaldehydlösung Versuche an.

Danach läßt sich Fleisch für längere Zeit mit Formaldehyd konservieren. Pferdefleisch aber z. B. damit behandelt, sieht unappetitlich aus und riecht ebenso; Rindfleisch zeigte keinen besonderen Geruch. Kurze Zeit mit Formaldehyd behandeltes Fleisch ist genießbar; längere Zeit behandeltes nicht. Formaldehyd muß deshalb zur Konservierung von Fleisch zu Nahrungszwecken als ungeeignet bezeichnet werden. Ob es bei längerem Gebrauch auf den Organismus giftig wirkt oder nicht, vermag zwar Verf. nicht zu entscheiden, doch ist es bei dem widerwärtigen Nachgeschmack, welchen es aufweist, absolut gleichgiltig, ein zweites Moment, welches die Anwendung für Fleisch zu Genußzwecken ausschließt.

Vielleicht kann der bei Pferdefleisch, das mit Formaldehyd behandelt wurde, stets nach 48 Stunden auftretende Geruch wie nach altem Gänsebraten zur Unterscheidung von Pferde- und Rindfleisch dienen, was bei kleineren Stücken oft unmöglich ist.

Zum Schluß weist Verf. darauf hin, daß bei allen Fleischstreifen lediglich nur die untere Hälfte die Zeichen der Formaldehydeinwirkung darbot, die obere Hälfte jedoch nicht, so daß diese bereits nach 96 Stunden Fäulniserscheinungen darbot. Weitere Untersuchungen müssen diese interessanten Thatsachen weiter aufhellen.

E. Roth (Halle a. S.).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

Russell, H. L., Pasteurization of milk for direct consumption. (Wisconsin Sta. Bul. XLIV. p. 48. With 12 figs.)

Der Verf. behandelt ganz ausführlich das Pasteurisieren der Milch und des Rahmes, bespricht die Bedingungen, die beim Pasteurisieren eingehalten werden müssen, die Apparate, die im großen und kleinen nötig sind, das Abfüllen in Flaschen, die Arbeitskosten etc.

Ferner definiert der Verf. den Unterschied zwischen Pasteurisieren und Sterilisieren und stellt die Vorteile eines jeden der beiden Verfahren fest. Er sagt:

„Beim Pasteurisieren braucht man Hitze von 60—80° C während einer nur begrenzten Zeitdauer.

Beim Sterilisieren benutzt man höhere Temperaturen, etwa so hoch oder höher als die Temperatur des Wassers.

Sterilisierte Milch ist nicht notwendigerweise steril, d. h. vollständig frei von allen lebenden Organismen, insofern ist also diese Bezeichnung eine falsche.

Die Widerstandsfähigkeit der stets in der Milch vorkommenden Bakteriensporen ist eine so ausgesprochene, daß eine einmalige Er-

hitzung die Milch nur dann von lebenden Organismen befreien könnte, wenn sie mehrere Stunden andauert."

Bei der Besprechung der bei dem Pasteurisieren der Milch im großen einzuhaltenden Bedingungen macht der Verf. über die Auswahl der Milch folgende Bemerkungen:

„Milch, die 12—24 Stunden gestanden hat und einen beträchtlichen Säuregrad erreicht hat, eignet sich zum Pasteurisieren nicht so gut als frische Milch. Die Entwickelung der Säure ist abhängig von dem Wachstum der Bakterienkeime in der Milch, die hauptsächlich der Gruppe der Milchsäurebakterien angehören; folglich ist Milch mit einem hohen Säuregehalt reich an Bakterien.

Je älter die Milch ist, um so reicher ist sie an Sporen, und folglich wird der Pasteurisierungsprozeß auf die in der Milch enthaltenen Bakterien weniger wirksam sein. Es wurde gefunden, daß Milch und Rahm, die am Montag pasteurisiert wurden, schneller sauer wurden, als die an irgend einem anderen Tage pasteurisierte Milch. Thatsächlich kam es manchmal vor, daß am Montag pasteurisierte Milch sich nicht so lange hielt, als am vorhergehenden Sonnabend pasteurisierte, was darauf zurückzuführen ist, daß die ältere Milch eine größere Anzahl Bakterien in Sporenform enthielt.

Je frischer von der Kuh weg die Milch pasteurisiert wird, um so besser ist es. Manchmal kann die Milch ohne Zeitverlust nach der Stadt transportiert werden; kann dies jedoch nicht geschehen, so ist es besser, sie auf dem Lande zu behandeln und in pasteurisiertem Zustande nach der Stadt zu transportieren.

Die Abend- und Morgenmilch sollte in getrennten Kannen aufbewahrt werden und während der heißen Sommerzeit kann es manchmal nötig sein, die Abendmilch zurückzuweisen, wenn sie nicht mit ganz besonderer Sorgfalt behandelt wurde."

Wo man Milch von verschiedenen Lieferanten zum Pasteurisieren erhält, soll man den Säuregehalt am zweckmäßigsten mit Farrington's alkalischen Tabletten bestimmen um einen Anhaltspunkt für das Alter und die Beschaffenheit der Milch zu erhalten.

Was die Pasteurisierungstemperatur anlangt, so spielen hier zwei Faktoren mit — die biologischen und die physikalischen Erfordernisse. Der thermale Abtötungspunkt der vegetativen Bakterien hängt von der angewandten Temperatur und der Dauer des Erhitzens ab. Während die meisten vegetativen Bakterienarten durch eine feuchte Wärme von 56—60° C in 10 Min. abgetötet werden, erfordern die Tuberkelbacillen eine höhere Temperatur. Diese werden getötet bei 65° C in 30 Min., bei 69° C in 15 Min., bei 75° C in 10 Min. Wird die Milch zu hohen Temperaturen ausgesetzt, so erhält sie einen dauernden Kochgeschmack. Milch und Rahm haben fast immer diesen Geschmack, wenn sie 20 Min. lang bei einer Temperatur von über 65° C pasteurisiert werden; der Geschmack verschwindet jedoch schnell beim Abkühlen.

Der Verf. hat oft die Temperatur von 69° C als die eigentliche Pasteurisierungstemperatur bezeichnet. Bei dieser Mitteltemperatur läuft man weniger Gefahr, die Milch zu überhitzen, als bei Anwendung der höchstmöglichen Temperaturgrade. Bei dieser Temperatur werden

die Schwindsuchtsbakterien in 15 Min. abgetötet; um aber sicher zu gehen, schlägt der Verf. eine Pasteurisierungsdauer von mindestens 20 Min. vor.

Nach der Ansicht des Verf.'s ist das Kühlen der pasteurisierten Milch fast oder ganz so wichtig als das Erhitzen, denn wenn man die Milch freiwillig abkühlen läßt, so kommt sie bald in Temperaturen, die für das Auskeimen und Wachstum der weniger widerstandsfähigen Bakterien, die durch das Erhitzen nicht abgetötet wurden, sehr günstig sind. Wird die Milch sich selbst überlassen, so dauert es oft mehrere Stunden, bis sie auf Lufttemperatur abgekühlt ist, und außer im Winter sollte sie weit unter Zimmertemperatur abgekühlt werden.

Der Verf. zeigt ein Diagramm, das die Notwendigkeit des raschen Abkühlens der Milch darthun soll. Er weist nach, daß die in der Milch stattfindenden bakteriellen Veränderungen direkt abhängig sind von der Länge der Zeit, die die Milch bei den Temperaturen, bei denen Bakterienwachstum stattfinden kann, verweilte. Um der Milch nach dem Pasteurisieren ihre Haltbarkeit zu sichern, soll sie sofort auf eine Temperatur unterhalb des Keimungsgrades, d. h. unter 10° C, abgekühlt werden; außer in den Wintermonaten ist im letzten Stadium des Abkühlungsprozesses Eis nötig.

Ein zweiter Nutzen des raschen Abkühlens soll in der Wirkung des plötzlichen Temperaturwechsels auf die Lebensfähigkeit der zurückbleibenden Sporen bestehen. Ein rasches Erhitzen, gefolgt von einer raschen Abkühlung hat eine größere paralysierende Wirkung auf die Lebensfähigkeit der Sporen, als allmähliche Temperaturänderungen; und um weiterhin den paralysierenden Einfluß des Abkühlungsprozesses noch zu verstärken, empfiehlt der Verf., das pasteurisierte Produkt einige Zeit bei einer niedrigen Temperatur zu halten. Man erzielt bessere Resultate, wenn man die pasteurisierte Milch erst einige Stunden bei niedriger Temperatur hält, als wenn man sie gleich in den Handel giebt. Es wird durch das längere Kühlhalten nach des Verf. Ansicht die Entwickelung der in der Milch bleibenden Sporen größtenteils unterdrückt, so daß pasteurisierte Milch oder pasteurisierter Rahm die auf 7,5—10° C (Kühltemperatur) gehalten werden, 4—7 Tage und noch länger süß bleiben. Verf. hat beobachtet, daß nur einmal pasteurisierte Milch über 4 Wochen süß blieb, wenn die Flasche versiegelt war. In seiner Pasteurisierungspraxis pflegt der Verf. an jeder pasteurisierten Milch eine Probe bei Zimmertemperatur stehen zu lassen und die Zeit zu notieren, innerhalb welcher der Rahm sauer wird. In keinem Falle gerann die Milch vor zwei Tagen, gewöhnlich hielt sie 3—4 Tage, selbst wenn die Zimmertemperatur zuweilen über 24° C stieg.

Der Verf. beschreibt noch einen Pasteurisierapparat zum Familiengebrauch. Dieser besteht aus einem großen Zinneimer mit einem zweiten durchlochten Boden. Die Flaschen mit Milch werden in den Eimer gestellt, in diesen wird Wasser gefüllt bis zur Milchhöhe, auf 71° C erhitzt, dann vom Feuer entfernt und zugedeckt $^1/_2$ Stunde stehen gelassen. Die Flaschen werden dann herausgenommen

so rasch als möglich abgekühlt und in einen Kühlraum gestellt. Die so behandelte Milch soll mehrere Tage süß bleiben.

Auch der Pasteurisierungsapparat im großen wird vom Verf. kritisch besprochen. Die Versuche ergaben, daß dieser Apparat nicht allen Anforderungen genügt. Der Verf. empfiehlt einen kombinierten Pasteurisier- und Kühlapparat, den er in Wort und Bild genau beschreibt. Er besteht aus zwei Kammern, die innere ist der Milchbehälter, die äußere der Wassermantel. Jede Kammer ist mit einer Rührvorrichtung versehen, um die Temperatur der Flüssigkeiten auszugleichen. Ein besonderer Hahn zum Ablassen der Flüssigkeit wird beschrieben und bildlich dargestellt. Die Hitze wird geliefert von einem Dampfrohr, das am Boden des Wassermantels eintritt. Durch dasselbe Rohr wird auch das Kühlwasser eingelassen. Das Rührwerk wird entweder mit Dampf oder von Hand getrieben. Die Milch oder der Rahm werden in den Behälter eingefüllt, das Wasser wird in den Mantel bis zur selben Höhe eingelassen und rasch auf die verlangte Temperatur erhitzt, wobei die Rührflügel von Anfang an in Thätigkeit sind. Die Temperatur in Wasser und Milch wird von Zeit zu Zeit abgelesen. Die verlangte Höchsttemperatur wird 20 Min. eingehalten, dann wird die pasteurisierte Flüssigkeit rasch gekühlt, entweder im nämlichen Apparat oder in einem besonderen Kühler. Wasser- und Eiskühler, ebenso Entwürfe zum Abfüllen der Milch in Flaschen werden in Wort und Bild erläutert, gleichzeitig mit einer Dampfsterilisierungsvorrichtung zum Sterilisieren der Flaschen und der beim Pasteurisieren benutzten Geräte.

Der Verf. giebt ferner Anleitung zum Pasteurisieren von Milch und Rahm unter Angabe der dabei zu beobachtenden Vorsichtsmaßregeln. Die pasteurisierten Materialien werden zur Versendung in einfache Milchflaschen gegeben, die mit einfachem Stopfen verschlossen werden, die zur Erzielung eines sicheren Verschlusses in Paraffin getaucht werden.

Die Unkosten des Verfahrens werden auch besprochen; bestimmte Zahlenangaben werden nicht gemacht, doch glaubt der Verf., daß unter gewöhnlichen Bedingungen die Kosten in einem einigermaßen großen Geschäft sich nicht über einige Cents per Gallone belaufen werden.

„So weit unsere Kenntnisse reichen", schließt der Verf., „kann man die pasteurisierten Materialen zu demselben Zwecke wie normale Milch oder normalen Rahm benutzen. Für häusliche Zwecke befriedigen sie außerordentlich; ein daraus hergestellter Eiscream hat eine zartere Beschaffenheit als der aus nicht pasteurisierten Materialien hergestellte. Mit Vorteil können sie als Invaliden- und Kindernährung benutzt werden, wozu sie von Aerzten empfohlen werden. Wird die vorgeschriebene Arbeitsweise eingehalten, so werden 99,7 $^0/_0$ der lebenden Keime der Milch abgetötet, und die Hemmung der Fäulnis- und Gärungsprozesse so vieler lebender Organismen kann nur von guten Erfolgen begleitet sein.

Beim Rahm sind die Kosten nur nominell; bei der Milch sind sie in Anbetracht des geringen Wertes des Materials etwas höher, doch hebt der höhere Wert des Produktes die Unkosten mehr als auf.

Angesichts der ökonomischen und hygienischen Vorteile, die pasteurisierte Milch und pasteurisierter Rahm bieten, wäre es nicht erstaunlich, wenn das Pasteurisieren, zumal im Stadthandel, allgemein in Aufnahme käme. W. Windisch (Berlin).

Rothenbach, F., Die Anwendung spaltpilzfeindlicher Agentien im Brennereibetriebe mit besonderer Berücksichtigung der Kunsthefeführung. [Mitteilung aus dem Laboratorium des Vereins der Spiritusfabrikanten in Deutschland.] (Zeitschr. f. Spiritusindustrie. 1896. No. 41—45.)

Einleitend weist Verf. in seiner umfangreichen Arbeit auf die günstigen Resultate hin, welche mit dem Effront'schen Flußsäureverfahren im Brennereigewerbe erzielt worden sind. Die Erfolge gaben Veranlassung, systematisch vergleichende Untersuchungen mit anderen Mineralsäuren und Desinfektionsmitteln anzustellen. Herangezogen wurden Salzsäure, schweflige Säure und Formaldehyd.

Die Versuche wurden mit der langsam an die genannten Säuren gewöhnten — akklimatisierten — Brennereihefe Rasse II ausgeführt. Diese Akklimatisationsversuche, welche ein abgeschlossenes Arbeitsgebiet für sich umfassen, wird der Verf. später veröffentlichen.

Konkurrenzversuche zwischen 1) Rasse II Flußsäure akklimatisiert, 2) Hefe Buir Flußsäure, 3) Rasse II Salzsäure akklimatisiert, 4) Rasse II Milchsäure.

Die Akklimatisationszeit für Hefe No. 1 betrug $4\frac{1}{2}$ Monate, für die Salzsäurehefe $2\frac{1}{2}$ Monate. No. 3 stammt aus der Brennerei Buir, welche mit Flußsäurehefe arbeitet. Die Hefe war, nach Züchtung einer Reinkultur, auf flußsäurefreier Würzegelatine aufbewahrt und zu den Versuchen wieder schnell an Flußsäure gewöhnt worden (10, 15, 20 und 30 g pro Hektoliter Würze).

A. Kunsthefeführung.

Das Hefengut (Kartoffelstärkeverzuckerungsgemisch, 20—27 Proz. Bll., variiert je nach der Menge eines Grünmalz- und Zuckerzusatzes) erhielt 30 g Flußsäure, bezw. 75 g Salzsäure pro Hektoliter.

Bei der mit Milchsäure geführten Hefe, die nicht akklimatisiert war, betrug der Säuresatz so viel, daß die Acidität der Maische um 1,4 Säuregrade (= 1,4 ccm N. Natron pro 20 ccm Maische) erhöht wurde.

Aus dem Gärverlaufe geht hervor, daß die Flußsäurehefe 4—5 Stunden später einsetzte und die bisher an Malzgewürze gewöhnte Flußsäurehefe Rasse II in der Maische aus Kartoffelstärke erheblich gegen die anderen Hefen in der Vergärung zurückblieb. Erst nach einem Monat konnten gleich weitgehende Vergärungen erreicht werden. Durch Flußsäure erhalten die Hefen ein total verändertes Aussehen. Die Säurezunahme während der Gärung ist trotz beständig frischer Bakterienzufuhr — durch die kalte Malzgabe — bei den Flußsäurehefen äußerst gering.

Hieraus ist zu ersehen, daß die Flußsäure ein hervorragendes Spaltpilzgift ist. Eine stärkere Säureproduktion zeigte sich bei der

Milchsäurehefe und, wenn auch in geringerem Grade, bei der Salzsäurehefe.

Inwieweit bei Anwendung der verschiedenen Desinfektionsmittel das Säureproduktionsvermögen beeinflußt wird, oder ob das Plus an Säure von einer vorübergehenden Entwickelung von Spaltpilzen herrührt, konnte bisher nicht entschieden werden.

Zuerst zeigte sich eine Infektion — Bacterium acid. lact. — bei der Milchsäurehefe nach etwa einmonatlicher Führung, die auch bei größerer Zugabe von Milchsäure bis 2,0° nicht wieder beseitigt werden konnte. Ungefähr einen Monat später trat die Infektion bei der Salzsäurehefe ein. Es gelang nicht, durch Anwendung größerer Säuregaben die Salzsäurehefe von den Bakterien gänzlich zu befreien, obwohl man anfänglich geneigt war, anzunehmen, eine völlige Entfernung erzielt zu haben. Wie sich aber nach weiterer Führung herausstellte, war nur eine Schwächung der Bakterien eingetreten. Wurden noch größere Säuremengen verwendet (600 g HCl pro Hektoliter), so ging die Infektion wohl zurück, aber auch die Hefe wurde deutlich geschwächt und schließlich trat die Infektion doch wieder auf.

Die den Betrieb gefährdenden Spaltpilze stammen scheinbar nicht von dem der Hauptmaische hinzugesetzten Grünmalz, sondern aus der Mutterhefe her.

Um die Unterschiede der einzelnen Säuren betreffs ihrer bakterienfeindlichen Eigenschaften möglichst schnell erkennen zu können, erhielten die Hefen- wie Hauptmaischen von Anfang an einen Zusatz von kaltem Darr- oder Grünmalz. Wie aus dem Vorhergehenden hervorgeht, trat aber eine Infektion erst verhältnismäßig spät ein; die Flußsäurehefen ließen eine Entwickelung von Spaltpilzen überhaupt nicht zu. Es scheint sonach, daß die den Brennereibetrieb gefährdenden Bakterien nicht von den Rohmaterialen, sondern aus der Kunsthefe stammen, an deren Säure sie sich erst mit der Zeit gewöhnen mußten. Die schädlichen Arten von Spaltpilzen treten also in einem gleichsam akklimatisierten Zustande auf und sind dann nur schwer oder gar nicht zu entfernen. In einem solchen Falle muß die Zuflucht zu einer neuen Anstellhefe genommen werden.

Die Resultate sind in einer ausführlichen Tabelle niedergelegt.

B. Führung der Hauptmaischen.

Dieselben waren wie die Hefenmaischen bereitet, aber nicht mit Fluß- oder Salzsäure versetzt worden, nur die Maische der Milchsäurehefe erhielt eine geringe Menge — 0,1° — Milchsäure.

Die Gärung verlief bei den Flußsäurehefen weniger kräftig als bei den anderen, auch wurde bei denselben, genau wie in den Hefenmaischen, ein konstant späteres Ankommen beobachtet. Die Salzsäurehefe lieferte in der Alkoholausbeute die besten Resultate, so lange sie nicht infiziert war. Auch hier sind die Ergebnisse in einer ausführlichen Tabelle zusammengestellt.

Konkurrenzversuche zwischen 1) Flußsäurehefe Buir; 2) Schwefligsäurehefe Rasse II, nicht akklima-

tisiert; 3) Flußsäurehefe Rasse II, nicht akklimatisiert.

Die Flußsäurehefe Buir war aus der vorhergehenden Versuchsreihe übernommen. Sie erhielt einen Zusatz von 30 g Flußsäure pro Hektoliter. Die nicht vorher an schweflige Säure gewöhnte Rasse II wurde, beginnend mit 12 g pro Hektoliter, nach 5-maliger Führung auf 20 g schweflige Säure pro Hektoliter gebracht. Diese Menge erwies sich als zu stark, wenigstens nach so kurzer Zeit der Führung. Die Hefe hatte in erheblichem Maße ihr Sproßvermögen verloren und infolgedessen waren die Vergärungen schlecht; die schweflige Säuregabe wurde daher auf 10 g herabgemindert. Die Säure wurde in Form des schwefligsauren Natrons benutzt, dessen Basicität durch Zusatz von Milchsäure aufgehoben war. Außerdem wurde die Hefe noch mit einer Gabe Milchsäure bis zur Säuerung von 1,0° versehen.

Bei Beginn der Versuche war die Hefe Buir der mit schwefliger Säure geführten Rasse II naturgemäß überlegen, doch bald holte letztere die Hefe Buir ein und gab gleich gute Resultate in den Kunsthefen wie in den Hauptmaischen. Die Hefen wurden $1^1/_2$ Monate lang geführt und hielten sich während dieses Zeitabschnittes frei von irgend welcher Infektion.

Von jetzt an wurden sie in zwei Teile geteilt, von denen der eine mit Bakterien infiziert wurde. Die Säuregabe für die Kunsthefenmaischen bei den Flußsäurehefen, auch bei der künstlich mit Spaltpilzen infizierten, betrug stets 30 g pro Hektoliter. Die Schwefligsäurehefe wurde mit 1,0 Säuregrad Milchsäure und 10 g schweflige Säure geführt.

Aus der Flußsäurehefe konnten die Spaltpilze nach dreimaliger Führung gänzlich entfernt werden, bei der Schwefligsäurehefe gelang eine gänzliche Entfernung der Spaltpilze nicht. Die nicht infizierte Schwefligsäurehefe Rasse II hielt sich während einer Dauer von zwei Monaten bakterienfrei, doch trat im weiteren Verlaufe der Versuche bald eine Infektion ein.

In analoger Weise verlief das Resultat bei den Hauptmaischen. Die nicht akklimatisierte Flußsäurehefe Rasse II war durch die Flußsäuregabe von gleich 30 g pro Hektoliter zunächst stark geschwächt worden, erholte sich aber bei den weiteren Durchführungen wieder und kam der Hefe Buir in der Gärwirkung bald gleich, um sie später sogar noch zu übertreffen.

Konkurrenzversuche zwischen 1) Flußsäurehefe Rasse II, nicht akklimatisiert; 2) Hefe Buir; 3) Schwefligsäurehefe Rasse II, nicht akklimatisiert; 4) Milchsäurehefe Rasse II mit Formaldehyd geführt, nicht akklimatisiert.

Die drei ersten Hefen wurden aus der vorhergehenden Versuchsreihe übernommen, und zwar wurden bei 2. und 3. die nicht künstlich infizierten weiter geführt. Zum Anstellen der vierten diente konservierte, durch Spaltpilze stark verunreinigte Salzsäurehefe Rasse II, die behufs Auffrischung vor dem Zusatz von Milchsäure

(0,45 °) und Formaldehyd (30 g, zeitweise auch 100 g pro Hektoliter) mit 75 g Salzsäure pro Hektoliter längere Zeit hindurch geführt worden war. Nach sechsmaliger Führung war es gelungen, die Formaldehydhefe von der sehr starken Infektion akklimatisierter Spaltpilze zu befreien. Aus der beigegebenen ausführlichen Tabelle ist zu ersehen, daß sowohl Flußsäure als auch Formaldehyd ausgezeichnete Mittel zur Bekämpfung von Brennereibakterien sind.

Die Beobachtungsdauer für die Immunität gegen Spaltpilze betrug bei Hefe Buir 8 Monate, bei Flußsäurehefe Rasse II 4 Monate, bei der Formaldehydhefe 3 Monate. Die schweflige Säure war nicht im stande, bei ungünstigen Bedingungen eine Hefe auf die Dauer rein zu erhalten. Nach einer Zeit von $2^1/_2$ Monaten trat bei der Schwefligsäurehefe eine Infektion auf, deren Entfernung nicht wieder gelang.

Durch die verschiedenen als Spaltpilzantiseptica hinzugesetzten Agentien wurden nicht allein die Gärungserscheinungen, sondern auch die Gestalt der Hefen teilweise stark beeinflußt. Durch die Behandlung mit Flußsäure wird die Hefe erheblich kleiner, nimmt geschrumpfte Formen an und zeigt vielfach stark körniges Plasma. Bereits früher wurde von Cluss und Effront wiederholt auf das charakteristische Aussehen der Flußsäurehefen hingewiesen. Die Flußsäurehefen gären bei niederer Temperatur (14—18 ° R) langsamer an als die nicht behandelten. Dasselbe gilt, wenn auch nicht in so hohem Grade, von der Salzsäurehefe bei Anwendung von über 100 g Salzsäure pro Hektoliter. Typisch für diese Hefe ist die Unregelmäßigkeit in der Größe der Zellen. Unter dem Einfluß der schwefeligen Säure werden die Hefezellen erheblich größer und sehen unter dem Mikroskop vorzüglich aus. Die Membran war in den ersten Tagen der Gärung straff gespannt, ein stark körniger Inhalt wie bei der Flußsäurehefe wurde selten beobachtet. Die Gärung verlief aber trotz des vorzüglichen Aussehens und der guten Sproßkraft selbst bei mittleren Mengen von schwefliger Säure (10—20 g pro Hektoliter) nur träge.

Bei Anwendung von Formaldehyd neigen die Hefen zur Bildung von apiculatusartigen Zellen, namentlich bei Beginn eines Zusatzes von diesem Antisepticum.

Betreffs der Angärung ist hervorzuheben, daß besonders bei größeren Dosen Formaldehyd eine Verzögerung eintritt. Diese für hohe Gaben typische, verzögernde Wirkung der Antiseptica kann durch höhere Temperatur (Cluss) und durch öfteres Schütteln oder Rühren paralysiert werden. Namentlich die Flußsäurehefe setzte bei letzterer Behandlungsweise füher mit der Gärung ein und vergor die Hefenmaische auch weiter als ohne Rühren.

Zwischen Hefe Buir und Flußsäurehefe Rasse II konnte ein geringer Unterschied nur in betreff der Größe der Zellen festgestellt werden. Hefe Buir ist gleichmäßiger.

Mit diesen Angaben ist der theoretische Teil der Abhandlung erschöpft und es folgen nun die Resultate der in der Praxis ausgeführten Versuche.

Die Ergebnisse des theoretischen wie des praktischen Teils der recht interessanten Arbeit lassen sich kurz in folgende Punkte zusammenfassen:

1) Als spezifische Spaltpilzantiseptica haben sich nur Flußsäure und Formaldehyd erwiesen.

2) Trotzdem eignen sich auch die anderen anorganischen Säuren mehr oder minder zur Hefeführung.

3) Die besten Ausbeuten in Dickmaischen wurden mit der Salzsäurehefe erzielt.

4) Unter dem Einfluß der einzelnen Desinfektionsmittel werden die morphologischen und physiologischen Eigenschaften der Heferassen in verschiedener Weise verändert.

5) Eine monatelange Gewöhnung der Hefe an die Antiseptica war unter der Voraussetzung der Wahl günstiger Vegetationsbedingungen nicht nötig.

6) Es ist vielmehr möglich, schon nach einigen Hefeführungen gute Ausbeute zu erzielen.

7) Die den Betrieb gefährdenden Spaltpilze stammen, wofern nicht allzu schlechte Kartoffeln verarbeitet werden und dadurch Unregelmäßigkeiten beim Maischen entstehen, nicht vom Grünmalz her, sondern aus der Mutterhefe.

8) Dieselbe ist daher bei schlechtem Betriebe entweder durch neue Stellhefe zu ersetzen oder mit Hilfe von Formalin (eine ca. 40-proz. Formaldehydlösung) zu reinigen.

9) Die größte Alkoholausbeute wird in der Praxis mit einer spaltpilzfreien Hefe erzielt.

10) Von den in Frage kommenden prophylaktischen resp. Reinigungsmitteln eignet sich am besten das Formalin, da durch Flußsäure die Hefe stärker geschwächt wird.

11) Die hohe Alkoholausbeute beim Formalinverfahren rührt höchstwahrscheinlich hauptsächlich von der geringen Säuremenge und der dadurch möglichen, stärkeren Nachverzuckerung der Maische her.

12) Auch in der Praxis dürfte eine mit Salzsäure und Formalin geführte Hefe mindestens eben so gute Resultate liefern, wie die Milchsäurehefe, namentlich in Betrieben, welche unter hoher Säurebildung zu leiden haben.

13) Sowohl beim Salzsäure- wie auch beim Milchsäureverfahren ist ein Zusatz von Formalin behufs Unterdrückung der Spaltpilze von Vorteil.

14) Der Zusatz kann zur Hefe und zum Bottich erfolgen.

Munsche (Wandsbek-Hamburg).

Müller-Thurgau, H., Prüfung der Wirksamkeit eines Schutzmittels der Reben gegen Frühjahrsfröste. (Jahresber. der Deutsch-schweizer. Versuchsstation in Wädensweil. IV. p. 59—60.)

Der Schutz besteht in der Bedeckung der Reben mit Holzwolle, einem sog. Rebnest nach Dr. Nieriker. Versuche ergaben, daß die Nachteile dieses Schutzmittels die Vorteile weit überwiegen.

Die Assimilationsthätigkeit der Blätter wird vermindert, die Blätter werden frostempfindlicher, besonders bei längerer Dauer der Bedeckung, bei nasser Witterung können die Rebnester sogar direkt nachteilig wirken, weil die Temperatur unter ihnen niedriger ist, als im Freien. Außerdem hat die verminderte Blattthätigkeit vor der Blütezeit erfahrungsgemäß häufig das „Durchfallen" der Traubenblüten zur Folge. Dazu kommen praktische Bedenken, welche den Rebnestern anhaften, endlich der nicht billige Anschaffungspreis, das zeitraubende Anbringen der Holzwolle an die Rebstöcke und schließlich die beim Abnehmen häufige Beschädigung junger Triebe.

Schmid (Tübingen).

Inhalt.

Originalmitteilungen.

Referate.

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Entwickelungshemmung u. Vernichtung der Bakterien etc.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

1896. Centralblatt Bd. II. No 22.
für Bakteriologie und Parasitenkunde.
II. Abteilung.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralblatt

für

Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Prof. Dr. M. W. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. v. **Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, Dr. **Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

II. Band. Jena, den 24. Dezember 1896. **No. 23/24.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige ***Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original-Mittheilungen.

Ueber eine Essigsäure bildende Termobakterie.

[Mitteilung aus dem Laboratorium der Trochgorny-Brauerei in Moskau.]

Von

A. Zeidler.

Mit 2 Figuren.

Unter der freundlichen Leitung Dr. P. Lindner's arbeitend, stellte ich auf Anlaß desselben einige Versuche mit einer Termobakterie an, die eine alkoholische Gärung nicht überdauert und in Bier kaum zur Entwickelung kommt (Wochenschr. f. Br. 1890. No. 47). Lindner reiht dieselbe in seinem bekannten Buche „Mikro-

skopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben“ neben andere Termoarten unter die Würzebakterien.

Da mir auch sonst von einer, die alkoholische Gärung überdauernden und in Bier gut fortkommenden Termoart nichts bekannt war, war ich einigermaßen überrascht, bei Isolierung von Bakterien eines Flaschenbierbodensatzes auf eine derartige zu stoßen. Ein erhöhtes Interesse erhielt die Bakterie, als sich erwies, daß dieselbe gleich den Essigsäurebakterien den Alkohol zu Essigsäure umzusetzen imstande war. In Bierwürze bildet sie geringe Mengen einer fixen Säure.

Das mikroskopische Bild zeigt bei voller Entwickelung in frischen Kulturen in allen untersuchten Nährmedien volle Uebereinstimmung mit der von Cohn beschriebenen Termobakterie. Ein Unterschied besteht nur in der großen Neigung dieser Bakterie zur Bildung von Involutionsformen. Schon in frischen Kulturen, hauptsächlich in Bierwürze, treten stark angeschwollene Bakterien auf, die sich in

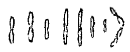


Fig. 1. Gewöhnlich vorkommende Form der Bakterie (680fache Vergr.).



Fig. 2. Involutionsformen (680fache Vergr.).

Form und Bewegung jedoch kaum von den übrigen unterscheiden. In älteren Würzegelatine- und Bierkulturen hingegen, im Bodensatz sowohl wie an dem sich an den Glaswandungen bildenden Bakterienringe, finden sich reichlich Involutionsformen, die den von Hansen, „Recherches sur les bactéries acétifiantes“, entworfenen Zeichnungen Fig. No. 10 und 12 sehr nahe kommen. Formen als kürzere und längere sich wie Würmer krümmende Ketten und Ruten sind vorherrschend bei Benutzung ungünstiger Nährmedien, wie z. B. gehopfte Bierwürze mit einem Zusatz von 12-proz. Alkohol.

Die charakteristische Eigenbewegung der Termobakterie ist in Würzekulturen bis zur Bildung einer Acidität von 4—5 ccm zu beobachten. In Bierkulturen hört dieselbe nach Bildung einer Acidität von 30—35 ccm auf.

Als Acidität ist die Anzahl der Kubikcentimeter einer $^1/_{10}$ N.-Natronlauge angenommen, die nötig ist, um 10 ccm der Versuchsflüssigkeit zu neutralisieren.

In Wein ist von Anfang an eine verlangsamte Bewegung der

Bakterie zu beobachten, die sich nach Bildung einer Haut auf der Oberfläche ganz verliert.

In Nährmedien, in denen die Bakterie keine Säure erzeugt, ist die Eigenbewegung derselben wochenlang zu konstatieren.

In Plattenkulturen bildet die Bakterie in Würze- oder Biergelatine schon den 3. Tag makroskopisch wahrnehmbare Kolonieen. Dieselben sind kreisrund, in der Mitte schwach gekörnt, von bräunlich gelber Farbe, zu den glatten Rändern zu bläulich durchschimmernd. In der Gelatine befindliche Kolonieen stellen ihr Wachstum sehr bald ein. Auf der Oberfläche der Gelatine wachsen dieselben zu schwach gelblich gefärbten Tröpfchen von herz- oder birnenförmiger Gestalt an, ohne die Gelatine zu verflüssigen. Bei Benutzung von Biergelatine tritt ein scharfer Essiggeruch auf.

Auf Würzegelatine als Strichkultur ist das Wachstum im Gegensatz zu anderen Termoarten gering und mehr gleich den Essigsäurebakterien. Es bildet sich ein stark glänzender, durchsichtiger, nur in der Mitte weißlicher Belag mit glatten Rändern, der schon nach ca. 1 Woche nach unten zusammenfließt, ohne die Gelatine merklich zu verflüssigen.

Auf Fleischsaftgelatine verhält sich die Bakterie gleich den Essigsäurebakterien. Es bildet sich langsam ein dünner, schwach gelblich gefärbter Strich, der von einem milchigen, auf der Oberfläche irisierenden Hof umgeben ist.

Auf Kartoffel ist ein Wachstum kaum bemerkbar.

In Stichkulturen ist in den ersten Tagen deutlich eine Entwickelung wahrnehmbar, die sich auch später nur auf die Oberfläche beschränkt.

In flüssigen Nährböden, in gehopfter Bierwürze, ist an der Oberfläche sehr bald eine wolkenartige Trübung zu sehen, die sich dann der ganzen Flüssigkeit mitteilt, dieselbe schmutzig gelbbraun färbend, ohne daß ein sellerieartiger Geruch zu bemerken wäre. Eine Hautbildung tritt höchstens in Form kleiner, leicht abfallender Inselchen auf, die keine schleimige Beschaffenheit zeigen. Am Rande der Flüssigkeitsoberfläche bildet sich gewöhnlich ein weißer, bläulich durchschimmernder Bakterienring. Nach Beendigung der Entwickelung hat sich am Boden des Gefäßes reichlich ein lockerliegendes bräunliches Sediment abgelagert, die überstehende Flüssigkeit ist klar, aber stark opalisierend.

In Bier tritt eine Entwickelung mindestens 24 Stunden später ein wie in Würze. Die Bildung kleiner Häutchen auf der Oberfläche ist meist stärker, ein Zusammenwachsen derselben zu einer Haut über die ganze Oberfläche konnte nie beobachtet werden.

Die übrigen äußeren Erscheinungen gleichen einer Würzekultur.

In einem Rotwein von 8 Proz. Alkoholgehalt kommt Termo erst 7 Tage später an als in Bier und 4 Tage später als eine zum Vergleich benutzte Essigsäurebakterie. Die Oberfläche des Weines bedeckt sich mit einer anfangs sehr zarten, leicht herabfallenden Haut, die gleich der Hautbildung auf Würze und Bier mehr eine Anhäufung von Bakterien ohne jeglichen Zusammenhang darstellt. Nach einigen Tagen finden sich in der Haut reichlich zu langen Fäden

ausgewachsene Bakterien, die Haut wird konsistenter, ohne jedoch den festen Zusammenhang einer Hautbildung der Essigsäurebakterien zu erreichen. Vermeidet man ein Herabfallen der Haut, so bleibt der Wein, im Gegensatz zu Würze und Bier, bis zuletzt so gut wie blank.

In Hefenwasser oder Peptonlösungen ist das Wachstum eher schlechter als in Würze und Bier und tritt ein Fäulnisgeruch hierbei nicht auf. In Nährlösungen, ähnlich zusammengesetzt, wie sie Pasteur zu seinen Versuchen über Essigsäurebakterien benutzte, in denen Ammonsalze die einzige Stickstoffquelle bilden, kommt die Bakterie zur Entwickelung. Ebenso in einer reinen 1-proz. Dextrinlösung von der Ablenkung 3,42°, die nach der Entwickelung der Bakterie mit Fehling'scher Lösung einen deutlichen Kupferniederschlag ergiebt. Ein nachträgliches Polarisieren der Versuchsflüssigkeiten war nicht möglich, da ein klares Filtrat durch keine Mittel erzielt werden konnte.

Der Einfluß der Temperatur auf das Wachstum der Bakterie drückt sich am besten durch die bei den betreffenden Temperaturen erhaltenen Aciditätszahlen aus.

Zeit	Temperatur	Acidität in Würze ccm	Acidität in Bier ccm	Bemerkungen
8 Tage	20° R	3,6	19,8	Kräftige Entwickelung der Bakterie.
	10—12° R	1,8	3,8	Dasselbe.
	4—5° R	Keine Säurezunahme		Schwache Entwickelung.
30 Tage	10—12° R	3,8	36,4	Kräftige Entwickelung.
	4—5° R	2,6	9,6	Dasselbe.

Bei 1—2° R war auch mikroskopisch nach 1 Monat weder in Würze noch Bier eine Entwickelung nachweisbar, die darauf nach 36-stündigem Stehen der Kölbchen im Thermostaten kräftig einsetzte.

Die Temperatur, welche eine Tötung der Bakterie bewirkt, wurde in der Weise ermittelt, wie sie van Laer (Zeitschr. f. g. Br. 1892. No. 36) angiebt, und lag bei Benutzung von Würze zwischen 40 und 45° R, bei Benutzung von Bier zwischen 35 und 40° R.

Der Einfluß der Luft zeigt sich schon bei der Platten- und Stichkultur. Entzieht man der Bakterie ganz die Luft durch Verschließen geimpfter Bier und Würze enthaltender Flaschen, so bildet sich in den ersten Tagen ein schwacher Schleier, in Würze eine Spur kräftiger, der sich jedoch nicht verstärkt. Nach zweiwöchentlichem Stehen sind Termobakterien in solchen Kulturen vereinzelt an ihrer Beweglichkeit leicht erkenntlich, nach 1 Monat nicht mehr. Eine Geschmacksveränderung oder Säurezunahme war auch nach 1 Jahre nicht eingetreten. Der einzige Unterschied gegen die Kontrollflaschen bestand nur in einer schwachen Entfärbung des Bieres und der Würze, die letztere etwas stärker, die dabei auch einen beträchtlichen Bodensatz abgestorbener Zellen aufwies. Es genügt sogar ein un-

genügender Luftzutritt, um die Bakterie zu keiner rechten Entwickelung kommen zu lassen. So trat bei Benutzung eines Erlenmeyer'schen Kolbens, dem zur Probeentnahme in der Nähe des Bodens ein Stutzen angeschmolzen war, eine Säurebildung des darin befindlichen Bieres erst nach 1 Monat ein, und zwar erst, nachdem ca. $^1/_4$ des Bieres zur Untersuchung verbraucht war und die Oberfläche der Flüssigkeit dadurch um ein Bedeutendes gewonnen hatte. Das Maximum der Säurebildung war erst nach $2^3/_4$ Monaten erreicht, während eine Essigsäurebakterie unter genau denselben Bedingungen die Säurebildung schon den 4. Tag begann und nach 1 Monat beendete.

Bei günstigerem Luftzutritt ist der Unterschied in der Säurebildung der beiden Bakterien geringer, macht sich aber auch hierbei bei Beginn der Entwickelung stark bemerkbar. Erst nachdem eine weitere Trübung der Versuchsflüssigkeit nicht mehr zuzunehmen scheint und Hautbildungen auftreten, setzt eine kräftige Säurebildung der Termobakterie ein. Folgender Versuch mag als Illustration dienen. Benutzt wurde in diesem Falle mit Alkohol versetztes Hefenwasser, je 300 ccm in 500 ccm fassenden Kolben, kultiviert bei 15—18° R.

Zeit in Tagen	Termobakterie		Essigsäurebakterie	
	Acidität ccm	Bemerkungen	Acidität ccm	Bemerkungen
1	0,3	—	0,3	—
3	—	Oberfläche getrübt.	—	Starke Hautbildung an der Glaswandung.
5	1,4	Flüssigkeit stark getrübt. Zellen in voller Bewegung.	6,6	Schwache Hautbildung auf der Oberfläche.
7	2,0	Dasselbe.	15,8	Dasselbe.
10	2,8	Dasselbe.	39,4	Starke Hautbildung fast über die ganze Oberfläche.
14	5,4	Dasselbe.	61,0	Dasselbe.
16	—	Dasselbe.	66,4	Keine weitere Säurezunahme.
17	11,6	Beginn einer Hautbildung an der Glaswandung.		
19	32,6	Geringe Zunahme der Hautbildung. Beweglichkeit nur mehr an einzelnen Zellen zu sehen.		
23	50,4	Keine Beweglichkeit der Bakterien mehr zu beobachten.		
27	60,0	Dasselbe.		
30	65,3	Keine weitere Säurezunahme.		

Ist die Hautbildung gering oder bleibt sie ganz aus, so geht die Säurebildung dementsprechend langsamer vor sich. Ganz be-

sonders verlangsamt, um mindestens die dreifache Zeit, wird dieser Prozeß durch tägliches Schütteln des Versuchskolbens.

Die Aërobität der Bakterie läßt sich auch im hängenden Tropfen oder in einem Tropfen mit einem Deckgläschen überdeckt, dem eine Platinöse an einer Seite untergeschoben ist, sehr gut beobachten.

Bei Untersuchung des Beijerinck'schen Bakterienniveaus sieht man erst nach 24 Stunden im Thermostaten eine feine zarte Bakterienschicht in derselben Höhe auftreten, wie bei einer zum Vergleich benutzten, eine Alkoholgärung nicht überstehenden Termoart. Die letztere hatte aber schon 2 Stunden nach der Impfung eine bedeutend kräftigere Bakterienschicht gebildet. Nach 36-stündigem Stehen im Thermostaten hatte sich in beiden Fällen das Bakterienniveau in der Flüssigkeit verteilt. Eine Essigsäurebakterie bildete dieses Bakterienniveau nicht.

Der Einfluß des Alkohols auf das Wachstum der Bakterie zeigt sich deutlich bei Impfung von Fläschchen mit genau gleichem Würze-, aber verschiedenem Alkoholgehalt. Nach 24-stündigem Stehen im Thermostaten zeigen solche Kulturen entsprechend dem Alkoholgehalt eine immer schwächer werdende Trübung. In Fläschchen mit 9 Proz. Alkohol war noch deutlich ein schwacher Schleier zu bemerken, in den Fläschchen mit 10 und 11 Proz. Alkohol war nur mikroskopisch eine Entwickelung zu konstatieren, mit 12 Proz. trat dieselbe erst den 3. Tag, mit 13 Proz. den 5. Tag, mit 14 Proz. den 7. und mit 15 Proz. erst den 10. Tag ein. In den Fläschchen mit 16 Proz. und höherem Alkoholgehalt war auch nach 1 Monat keine Entwickelung zu beobachten, die Bakterie muß also sofort bei der Impfung getötet worden sein. Die Aciditätszahlen weisen nach 10-tägigem Stehen im Thermostaten bis zu 6 Proz. Alkohol eine Zunahme auf, von 7 Proz. an eine Abnahme.

Würze ohne Alkohol	Acidität	5 ccm
Würze mit 1 Proz. Alkohol	„	19,4 „
„ „ 6 „ „	„	35,4 „
„ „ 7 „ „	„	21,4 „
„ „ 14 „ „	„	2,8 „

Acidität der Fläschchen vor der Impfung ccm	Aciditätszunahme nach 10-tägiger Kultur im Thermostaten (20 ° R) ccm	Bemerkung
37,5	—	Ganz vereinzelte Zellen ohne jegliche Eigenbewegung.
30	—	Schwache Entwickelung bei deutlicher Eigenbewegung der Bakterie.
22,5	1,7	Starke Entwickelung bei deutlicher Eigenbewegung der Bakterie.
15	4,8	Dasselbe.
7,5	14,5	Dasselbe.

Der Einfluß der Essigsäure auf das Wachstum dieser Bakterie macht sich stark geltend, was aus folgendem Versuch deutlich hervortritt. Es wurden Fläschchen mit 15 ccm 3 Proz. Alkohol enthaltender Würze mit verschiedenen Mengen Essigsäure versetzt und mit einer frischen Kultur der Termobakterie geimpft.

Eine Impfung in gleicher Weise beschickter Fläschchen aus einer Kultur von Termobakterien, die schon eine Acidität von über 40 ccm produziert hatten, änderte das Resultat des Versuches nicht. Darin liegt ein gewisser Widerspruch. Während in nicht angesäuerten alkoholhaltigen Nährlösungen die Bakterie nach Produktion einer Acidität von ca. 35 ccm wohl ihre Eigenbewegung, nicht aber die Fähigkeit verliert, eine Acidität bis über 100 ccm zu bilden, verliert sie in diesem Falle, also bei einer Ansäuerung des Nährbodens vor der Impfung, bei einer Acidität von 37 ccm nicht allein ihre Eigenbewegung, sondern auch ihre Entwickelungsfähigkeit. Dieser Widerspruch ließe sich vielleicht so erklären, daß eine Säurebildung nur nach vorangegangener starker Entwickelung der Bakterie möglich ist und daß die Umsetzung des Alkohols nach einer Produktion von ca. 35 ccm Acidität ohne ein Wachstum der Bakterie stattfindet. Thatsächlich ist in Bier oder in anderen Alkohol enthaltenden Kulturen immer vor Beginn der Säuerung eine starke Entwickelung der Bakterie zu beobachten, und, nach der Trübung zu urteilen, scheint dieselbe mit dem Einstellen der Eigenbewegung aufzuhören.

Ein Gegenversuch mit einer Essigsäurebakterie ergab eine Zerlegung der Essigsäure bis zu einer Acidität von 63 ccm. Eine Acidität von 73 ccm ließ eine Entwickelung der Bakterie nicht mehr aufkommen.

Als Gärungsprodukte kommen die zwei von dieser Bakterie erzeugten Säuren in Betracht: eine fixe und eine flüchtige.

Die fixe Säure konnte nur in Kulturen von bierwürze- und dextrosehaltigen Nährlösungen konstatiert werden. In Bier, aus dem der Alkohol entfernt ist, in Hefenwasser oder Peptonlösungen wird keine Säure erzeugt, auch nicht durch Zusatz von Rohrzucker, Dextrin, Glycerin zu diesen Nährsubstraten (Maltose und andere Zuckerarten waren mir nicht zugänglich). Das Maximum der Säurebildung in Würze und Dextroselösungen, auch bei steigendem Zusatz von Dextrose, beschränkt sich auf eine Acidität von 5 ccm. Ist diese Aciditätsgrenze erreicht, hört mit der Thätigkeit der Bakterie auch ihre Eigenbewegung, die gegen Ende bei immer weniger Zellen anzutreffen ist, ganz auf. Neutralisiert man solche Kulturen, so setzt die Beweglichkeit der Bakterie und die Säurebildung wieder ein. Fügt man einer Würze Alkohol zu, geht neben der Umsetzung des Alkohols in Essigsäure auch die Bildung der fixen Säure vor sich nach folgendem Beispiel:

Würze ohne Alkohol	Würze mit Alkohol
Acidität nach 1 Monat	Acidität nach 1 Monat
4,4 ccm	4,5 ccm Rückstand 55,2 „ Destillat.

Destilliert wurde nach der Landmann'schen Methode, wodurch die letzten Spuren der flüchtigen Säure weggeschafft werden konnten, allerdings geschieht das, auch bei nur 10 ccm Substanz, erst nachdem 1—1$^1/_2$ Liter übergegangen sind.

Was das Wesen der fixen Säure anbetrifft, so scheint dieselbe Milchsäure zu sein. Ein Aetherauszug giebt, nach Verdrängung des Aethers, sehr schön die Uffelmann'sche Milchsäurereaktion, jedoch erhielt ich das Zinksalz der Säure nicht in der völlig ausgesprochenen Krystallform des Zinklaktates.

Die Bildung der flüchtigen Säure konnte nur in Alkohol enthaltenden Nährmedien beobachtet werden und ist die Menge der gebildeten Säure immer abhängig von dem vorhandenen Alkohol.

Vergleicht man die theoretisch berechnete Menge Essigsäure, die durch Umsetzung von Alkohol in Essigsäure entstehen kann, mit der durch die Termobakterie erzeugten Säure, so findet man Differenzen von höchstens einigen Zehntel Prozent. In diesem Punkte wäre demnach eine vollständige Uebereinstimmung mit den Essigsäurebakterien vorhanden, ein Umstand, der darauf hindeuten würde, daß die bei diesem Prozeß gebildete Säure Essigsäure ist.

Auch im Geruch und Geschmack war absolut kein Unterschied von der von Essigsäurebakterien gebildeten Essigsäure zu finden. Ebensowenig nach der chemischen Analyse, die Reaktionen ergab, die nur auf Essigsäure schließen ließen.

Die Zerlegung der selbstgebildeten Essigsäure in Kohlensäure und Wasser, wie es bei den Essigsäurebakterien der Fall ist, konnte anfänglich bei dieser Bakterie nicht konstatiert werden. Die Annahme, daß die Ursache in dem leichten Herabfallen der unzusammenhängenden Haut auf der Oberfläche zu suchen sei, da dieselbe Ursache oft eine Zerlegung der Essigsäure auch in Kulturen von Essigsäurebakterien verhindert, bestätigte sich nicht. Abgesehen davon, daß ich mit Hilfe steriler Korkstückchen und Vermeidung jeglicher Erschütterung Kulturen erhielt, die stellenweise deutliche Hautbildung aufwiesen, bildet die Bakterie auf Wein eine verhältnismäßig feste Haut, die sich monatelang erhält, ohne eine Zerlegung der Essigsäure zu bewirken. Den Grund des Mißlingens fand ich erst bei Verwendung von Nährlösungen mit geringerem Alkoholgehalt. Aber nicht genug, daß 43 ccm die höchste Aciditätszahl war, bei der diese Umwandlung noch beobachtet werden konnte und diese Zahl oft sogar noch niedriger ausfiel, was jedenfalls mit der mehr oder weniger reichlichen Hautbildung zusammenhängt, so geht dieser Prozeß auch an und für sich sehr langsam vor sich, noch langsamer, wie bei der Bildung der Essigsäure. Die bedeutend geringere energische Thätigkeit dieser Bakterie gegen die Essigsäurebakterie tritt also hierbei noch deutlicher hervor.

Findet eine Zerlegung der Säure statt, so erscheinen gewöhnlich auf der Oberfläche der Versuchsflüssigkeit größere und dichtere inselförmige Bakterienschichten, wie anfänglich bei der Umsetzung des Alkohols, aber auch ohne jeglichen Zusammenhang oder schleimiger Beschaffenheit. Die Bakterie verändert dabei ihre Gestalt, wird mehr rundlich, diplokokkenartig und um ein Bedeutendes

kleiner, welche Form sie merkwürdiger Weise bei Ueberimpfungen längere Zeit beibehält. Ist die Acidität auf ca. 35 ccm gesunken, macht sich die Eigenbewegung der Bakterie wieder geltend.

Die Möglichkeit, daß bei dem Prozeß der Alkoholumwandlung neben der Essigsäure sich kleine Mengen anderer flüchtiger Säuren bilden, die sich einer chemischen Analyse entziehen, wäre nicht ausgeschlossen. Eine fraktionierte Destillation, wie sie Duclaux für solche Fälle vorschlägt, konnte ich nicht ausführen, da mir seine Arbeit nicht zugänglich war. Ich versuchte mich daher in folgender Weise zu behelfen, indem ich die durch Termo gebildete Essigsäure durch eine Essigsäurebakterie in Kohlensäure und Wasser umsetzte und darauf untersuchte, wie sich dieselbe Essigsäurebakterie gegen andere möglicherweise vorhandene flüchtigen Säuren verhält. Der Versuch sei hier samt dem Paralellversuch mit einer Essigsäurebakterie in Kürze angeführt.

Es wurden gleiche Mengen Bierwürze mit der Termo- resp. einer Essigsäurebakterie geimpft und unter genau denselben Bedingungen kultiviert (15—18 ° R).

Acidität der Würze nach		
Zeit	Termobakterie	Essigsäurebakterie
1 Monat	5,4 ccm	24,2 ccm

Da eine weitere Zunahme der Acidität nicht eintrat und die Abwesenheit einer flüchtigen Säure konstatiert war, wurden beide Kulturen mit einer Spur derselben Hefereinkultur geimpft. Die Gärung setzte gleichzeitig den 2. Tag ein.

Acidität der Würze nach der Gärung in		
Zeit	Termobakterie	Essigsäurebakterie
8 Tage	23,4 ccm	51,0 ccm
10 Tage	—	30,0 ccm davon Destillat 5,0 ccm Rückstand 24,4 „
15 Tage	42,6 ccm davon Destillat 37,0 ccm Rückstand 5,3 „	24,6 ccm Keine flüchtige Säure mehr vorhanden.

Als nach weiteren 20 Tagen eine Abnahme der flüchtigen Säure nicht eintrat, was in diesem Falle bezweckt war (die Bakterie war lebenskräftig geblieben), wurde die Kultur mit einer Essigsäurebakterie geimpft. Nach 8 Tagen trat deutliche Hautbildung auf.

Wiederholte Versuche, wobei Termokulturen benutzt wurden, in denen die Bakterie abgestorben war, ergaben dasselbe Resultat und zeigen somit, daß die von Termo gebildete flüchtige Säure vollständig von einer Essigsäurebakterie zersetzt wird.

Die Zunahme der fixen Säure in der Termokultur nach Impfung mit der Essigsäurebakterie muß von der letzteren herrühren.

Aciditát der Kultur nach	
Zeit	Termobakterie
8 Tagen	38,2 ccm
14 Tagen	8,5 ccm davon Destillat 0,1 ccm Rückstand 8,3 „
24 Tagen	9,3 ccm Keine flüchtige Säure mehr vorhanden.

Zur weiteren Untersuchung wurden Fläschchen mit Hefenwasser und Bier mit Propion, Butter, Ameisen- und Essigsäure versetzt bis zu einer Acidität von 10 ccm und mit derselben Essigsäurebakterie geimpft. Eine Entwickelung trat nur in den Fläschchen mit Essigsäuer (den 3. Tag) und Propionsäure (den 5. Tag) ein, jedoch wurde nur die Essigsäure, nicht aber die Propionsäure dabei zerlegt. Demnach scheint die durch Termo gebildete flüchtige Säure reine Essigsäure zu sein.

Die Lebensdauer der Bakterie ist im Gegensatze zu der Essigsäurebakterie (Hansen, Recherches sur les bactéries acétifiantes) sehr gering. Jedenfalls fand ich in Bier- und Würzekulturen nach 6-monatlichem Stehen bei Zimmertemperatur die Bakterie immer abgestorben, nach 5 Monaten noch lebensfähig.

Die Gefährlichkeit der Bakterie für die Brauerei ist, wie schon aus den angeführten Versuchen zu ersehen, unbedeutend. Spezielle diesbezügliche Versuche zeigten, daß nur bei Zusammenwirken dreier ungünstiger Faktoren: starke Infektion durch die Termobakterie, längere Gärdauer (14 Tage) und wärmere Gärführung (bei durchweg 7° R) eine Gefahr entstehen kann, und zwar liegt die Gefahr nicht so sehr in der Zunahme der Acidität (1—2 ccm), als im Verlust der Glanzfeinheit des resultierenden Bieres. Aber auch hierbei dürfte die Gefahr bei rechtzeitigem Eingriff: Abkühlung des Bieres auf Lagerkellertemperatur und möglichste Einschränkung des Luftzutrittes, leicht zu umgehen sein.

Eine wirkliche Gefahr könnte vielleicht bei der Essigsäurefabrikation eintreten, da die schwache Trübung, welche die Termobakterie hervorbringt, kaum wegzuschaffen wäre, trotzdem eine Essigsäurebakterie in einem Konkurrenzkampf die Termobakterie sehr bald überwuchert. Dieses leichte Ueberwuchern und der dadurch rasch eintretende Verlust der Eigenbewegung, wie die geringe Gefährlichkeit der Bakterie sind wohl auch die Gründe, daß eine Beschreibung der Bakterie in der Litteratur nicht zu finden ist, trotzdem sie nicht allzu selten vorzukommen scheint. Wenigstens habe ich nachräglich fast in jedem Flaschenbierrest, der einige Tage bei Zimmertemperatur unter Watteverschluß gestanden hatte, neben Essigsäurebakterien und Kahmhefe bewegliche Stäbchen gefunden, die, dem Aussehen nach zu urteilen, mit dieser Bakterie identisch sind. Man thut hierbei gut, die Bierflaschen öfter zu schütteln, um eine Kahmbildung aufzuhalten und somit wenigstens auf einige Tage die Ueberwucherung der Bakterie zu hintertreiben.

Faßt man die Versuche kurz zusammen, so ergäbe sich, daß die Bakterie ihrer Wirkungsweise nach unbedingt der Gruppe der Essigsäurebakterien zuzuzählen wäre, wenn sie ihnen in der energischen Thätigkeit auch nachsteht, während sie in Form und Bewegung der von Cohn beschriebenen Termobakterie gleichkommt.

Als Benennung wäre demnach vielleicht am naheliegendsten Termobacterium aceti.

Moskau, November 1896.

Bakterien-Gesellschaften.

Von

M. Jegunow, Assistent,

in

Nowo-Alexandria.

Mit 3 Textfiguren.

Eigenheiten der Schwefelbakterien der Fontainenplatte.

Dieser Organismus, welcher von mir im Jahre 1894 entdeckt wurde und auch schon beschrieben ist[1]), zeichnet sich durch einige recht bemerkenswerte Eigenheiten aus, welche ihn von allen bis jetzt bekannten Bakterien unterscheiden lassen.

I. Morphologie.

Die Schwefelbakterie der Fontainenplatte ist sehr zart, farblos, gewöhnlich eingliedrig, zweigliedrig sind nur die sich teilenden Individuen.

Die jungen Organismen sind oval, zuweilen recht dick; die älteren lange, gekrümmte Stäbchen, seltener spiralige; die Art der Spirale kann jedoch nicht unmittelbar bestimmt werden, weil der Organismus kein ganzes, sondern nur einen Teil eines Gewindes vorstellt, und die spiralige Krümmung undeutlich ausgedrückt ist. Bei lebenden Organismen ist sie bei der Bewegung deutlicher zu sehen. Auch die jungen ovalen und gekrümmten Organismen haben spiraligen Bau von ein und demselben Typus, wie später bewiesen werden soll. Der Körper des Organismus zeigt bedeutende Lichtbrechung und ist mit Schwefelkörnern angefüllt. Die Membran ist sehr zart und fein (man kann dieselbe nur auf Präparaten wahrnehmen, welche wegen Schwefelwasserstoffhungers ihre Schwefelkörner eingebüßt haben). Solche Organismen werden dünner. Abtrocknen und Färben vermittels Karbol-Fuchsin rufen Plasmolysefiguren hervor und der Körper des Organismus löst sich von der Membran bald an einem, bald an beiden Enden. Niemals gelang es mir, ein Abstehen an anderen Stellen wahrzunehmen. Solche Organismen färben sich

1) Bakterien-Gesellschaften. (Centralbl. f. Bakt. Bd. II. 1896. No. 1.)

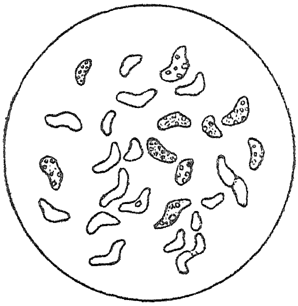


Fig. 1.

folgendermaßen: Der Körper färbt sich intensiv (zuweilen ist seine dünne peripherische Schicht noch intensiver gefärbt), aber die Membran ist schwachrosafarbig, indem sie an beiden Enden eine Art abgerundeter Käppchen bildet. Ihre Umrisse sind zuweilen schwach, zuweilen stark gezeichnet (Fig. 1). Es ist leicht möglich, daß dieses davon herrührt, daß die äußere Schicht der Membran an diesen Stellen mehr mit Schleim bedeckt ist als an anderen. Hierüber geben, wie wir sehen werden, die Eigenheiten der Organismenbefestigung Auskunft.

Die Schwefelkörner sind ohne jede Regelmäßigkeit näher nach der Peripherie gelagert, klein und von ungleicher Größe.

Die beste Methode zur Bestimmung der Natur dieser Körner ist ihr Verschwinden beim „Schwefelwasserstoffhungern".

Die Dimensionen der Schwefelbakterien der Fontainenplatte sind: mittlere Länge zwischen 2,5 und 3,4 μ; Breite von 1—1,7 μ; junge ovale Länge 2,2 μ, Breite 1—1,5 μ. Zuweilen trifft man aber Organismen von 5 μ Länge an.

Die Schwefelbakterien färben sich leicht (z. B. mit Karbol-Fuchsin). Bei der Abtrocknung und Färbung werden die Ränder der Bakterien ein wenig uneben, und mir scheint es, daß ihre Form sich ein wenig verändert.

II. Die Regelmäßigkeit in den Bewegungen.

Die merkwürdigsten Eigenheiten des Organismus sind:

1) Das Vermögen, sich nach Belieben zu befestigen und loszureißen und

2) die Regelmäßigkeit der Bewegungen.

Die Regelmäßigkeit der Bewegungen besteht in Folgendem:

1) Alle Organismen, welche sich zeitweilig am Deckglase befestigt haben, deren Befestigungspunkt daher näher und deren freies Ende weiter vom Beobachter entfernt ist, drehen sich nach Art des Uhrzeigers.

2) Alle Organismen, welche sich am Objektträger befestigt haben, und deren Befestigungspunkt daher weiter vom Beobachter und ihr freies Ende demselben näher ist, drehen sich umgekehrt wie der Uhrzeiger. Ausnahmen davon sind nicht wahrgenommen worden. Beobachtungen erwiesen, daß keine Veränderungen des Mediums imstande sind, den Charakter der Bewegungen zu verändern, sogar wenn diese Veränderungen tötend auf den Organismus einwirken. Hieraus folgt, daß diese Erscheinung ganz und gar nur von der Art des Gewindes abhängig ist. Zugleich ist auch die Voraussetzung von der möglichen Wirkung der zeitweiligen Gesamtimpulse ausgeschlossen, welche fähig wären, in den Bewegungen irgend welche Unordnung hervorzurufen.

Die weiteren Beobachtungen sind natürlich auf die Bestimmung der Gewindeart gerichtet.

III. Ueber Spiralen oder Windungen.

Eine rechte Spirale nennt man eine solche, welche bei der Drehung in der Richtung des Uhrzeigers sich vom Beobachter entfernt, aber in entgegengesetzter Richtung sich dem Beobachter wieder nähert. Folglich wird eine Schraube mit Drallen nach der rechten Spirale bei der Drehung in der Richtung des Uhrzeigers sich einschrauben (Fig. 2 *a*), in entgegengesetzter Richtung sich ausschrauben. Die linke Spirale charakterisiert sich durch entgegengesetzte Eigenschaften (Fig. 2 *b*). Bezeichnen wir die hinteren (weiteren) Seiten der Spirale mit Punkten. Wenn man die eine Spirale um die halbe Höhe des Gewindes hebt oder senkt, so nehmen die Flächenbilder der beiden Spiralen eine parallele Lage ein, wobei die hinteren Seiten (mit Punkten bezeichnet) der einen parallel den vorderen

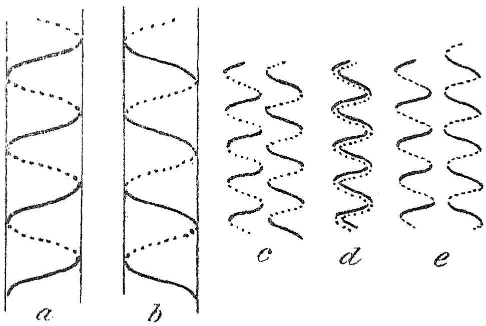
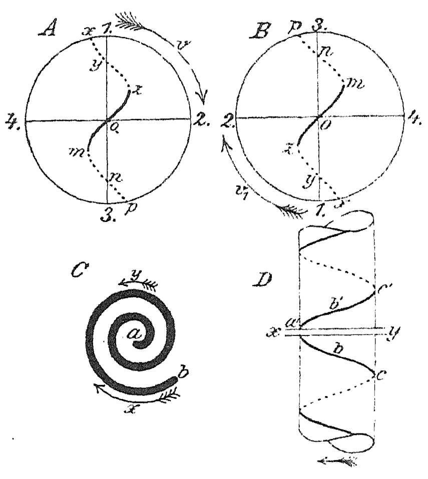


Fig. 2.

Seiten der anderen sind. Jetzt können wir sogar ihre Bilder aufeinander legen, wobei die punktierten Stellen der einen mit den fettgedruckten der anderen zusammenfallen (Fig. 2 *c* und *d*). Wenn wir sie aber in derselben Lage der Spirale von einem Gesichtspunkt, welcher zum ersteren unter einem Winkel von 90° gelegen ist, betrachten, so sehen wir, daß sie im Raume einzeln gelegen sind, aber nur die eine die andere verdeckt (Fig. 2 *e*). Wenn wir jedoch die Punktierung — diese bedingten Zeichen — weglassen, so kann man bei einer Flächenbetrachtung die Spiralen von einander nicht unterscheiden.

Unter dem Mikroskope verändern sich die Spiralen nicht, die linke bleibt eine linke und die rechte eine rechte, was leicht aus der Fig. 3 zu ersehen ist, wo *A* die Spirale mit unbewaffnetem Auge und *B* dieselbe unter dem Mikroskope darstellt. Sogar eine Kreisbewegung verändert sich nicht, so z. B. zeigt sich eine solche Bewegung, welche sich in der Richtung des Uhrzeigers dreht, unter dem Mikroskope noch als eine solche (Fig. 3, Pfeil *v*).


Fig. 3.

Was die Vorstellung von „unten" und „oben" unter dem Mikroskope anbetrifft, so ist sie, ungeachtet der genauen Angabe der Mikrometerschraube und der genauen Kenntnis der Veränderung des Glanzes der Körper von einer bestimmten Lichtbrechung bei der Bewegung des Tubus nach unten und oben, eine gänzlich willkürliche. Infolgedessen ist es sehr leicht, die Spirale umzuwandeln, so ist z. B. auf der Fig. 3 *C* eine Spirale dargestellt, welche im Punkte *a* am Gegenstande festsitzt. Wenn jetzt das freie Ende *b* näher als *a* ist, so ist die Spirale eine rechte. Wenn man sich aber vorstellt, daß das Ende *b* weiter als *a* ist, so erhält man eine linke Spirale. Wenn sich eine Spirale im Sinne des Uhrzeigers *x* dreht, so ist 1) in beiden Fällen die Bewegung eine stoßende, 2) in beiden Fällen wird das freie Ende *b* dem Körper folgen und 3) wenn die Spirale schief befestigt ist und glänzende Körner besitzt, so geht in beiden Fällen die Aufeinanderfolge der Erscheinung der Spiralteile und der Körner vom befestigten Ende zum freien, wie es der Pfeil *y* andeutet. Auf diese Weise sehen wir, daß wir bei der Vorstellung von den beiden Spiralen eine völlige Illusion erhalten. Dieses hängt davon ab, daß wir durch Einbildung die Spirale auf eine eben solche Art verändern, wie wir in der Natur den Finger eines Handschuhes auskehren. (Fig. 3 *d* giebt uns eine klare Darstellung. Unterhalb ist eine linke Spirale, welche in *a* an der Linie *x y* befestigt ist. Wenn man den Cylinder, auf welchem die Spirale gezeichnet ist, wie den Finger eines Handschuhes auskehrt, so wird sich die linke Spirale in eine rechte verwandeln. In der That verändert *a* seine Stellung nicht und *b* und *c* sind in ihrer neuen Lage in derselben Entfernung von *x y*. Die vordere Seite der Spirale (*a*, *b*, *c*) wird auch die vordere bleiben.)

Ich werde bei der Bedeutung anderer Merkmale nicht stehen bleiben, weil ihre Bedeutung für die Bestimmung des Gewindes kleiner Organismen gleich Null ist.

Auf diese Weise konnten die aufgezählten Eigenschaften und Merkmale der Spirale nicht zum Studium sehr vieler, großer und stark gekrümmter oder mit einer dichten geschlossenen Spirale versehenen Organismen angewandt werden, bei welchen man nur nach einem mikroskopischen Bilde mit Bestimmtheit die vorderen und hinteren Seiten der Spirale angeben könnte.

Leider war bei den von mir beobachteten Organismen, die mit einer schwachen Krümmung, welche zuweilen kaum wahrnehmbar

war, versehen waren und die größtenteils nur einen Teil einer Spirale darstellten und unter dem Mikroskope ein ganz flaches Bild gaben, eine direkte Bestimmung des Gewindes nicht möglich. Nur Eigenheiten der Schwefelbakterien der Fontainenplatte gaben die Möglichkeit, auch diese Methoden zur Bestimmung der Art ihrer Gewinde anzuwenden, während bei jungen ovalen Formen der dem Auge unmerkliche spiralige Bau nicht bestimmt werden konnte.

IV. Bestimmung des Gewindes der Schwefelbakterien der Fontänenplatte.

Die bewunderungswerte Regelmäßigkeit in den Bewegungen erlaubte die Art des Gewindes zu bestimmen. Die Bewegung der Organismen, welche sich am Deckgläschen befestigt haben, charakterisiert sich durch Folgendes:

1) Die Organismen beschreiben mit ihren freien Enden Kreise in der Richtung des Uhrzeigers, weil ihr Körper sich auch in derselben Richtung dreht.

2) Die Bewegung ist eine stoßende, d. h. bei einem gewissen Gewinde drehen sich die Organismen so, daß sie auf den Befestigungspunkt drücken. Hinzufügen wollen wir noch, daß das befestigte Ende näher dem Beobachter ist, als das freie, was daraus folgt, daß die beobachteten Organismen am Deckgläschen befestigt sind.

Zu einer theoretischen Lösung dieser Aufgabe sind diese Daten vollkommen ausreichend. Wenn sich die Spirale im Sinne des Uhrzeigers dreht, wenn das befestigte Ende näher dem Beobachter als das freie ist, wenn die Bewegung eine stoßende ist, so ist die Spirale eine linke, weil nur sie bei der Bewegung in der Richtung des Uhrzeigers sich dem Beobachter nähern wird.

Wenn ferner der Befestigungspunkt weiter als das freie Ende vom Beobachter steht, so muß die Bewegung eine entgegengesetzte sein.

Thatsächlich beschreiben die Organismen, welche sich am Objektträger befestigt haben, 1) mit ihrem freien Ende Kreise im Sinne gegen den Uhrzeiger (ihr Körper dreht sich auch in derselben Richtung, 2) haben sie eine stoßende Bewegung. Folglich ist die Spirale eine linke. Jedoch ist unter diesen Daten eine, welche subjektiv erscheinen und sogar ohne jegliche Beweise sein kann, besonders in Bezug auf die obige Verwandlung der Spiralen — das ist die stoßende Bewegung. Man müßte die Frage lösen, ob diese Bewegung wirklich eine stoßende ist und ob sich die in Rede stehende Schwefelbakterie nach der Theorie der Schraube dreht.

Um Objekt- und Deckglas von einander zu entfernen, habe ich zwischen denselben ein wenig feinen Staubes oder Stückchen vom Deckglas oder Platinadrähtchen gelegt (ungefähr so, wie es Beyerinck bei seinen Atmungsfiguren gemacht hat). Ein solches Präparat wurde auf mehrere Stunden in die feuchte Kammer gestellt (ganz gleich, ob im Licht oder im Dunkeln), um die zu große Beweglichkeit und Geschäftigkeit der Schwefelbakterien zu schwächen und um bei einigen von ihnen die Bewegungsgeschwindigkeit zu verringern.

Die bei diesen Organismen gemachten Schlußfolgerungen wurden später bei frischem Materiale bestätigt.

Am besten war es, die Beobachtungen bei recht starker, künstlicher Beleuchtung und bei den kleinsten Diaphragmaöffnungen anzustellen. Unter diesen Bedingungen erhielt man die größte Tiefe des Fokus, welche das Studium der Bewegungen der Organismen und ihrer fortschreitenden Bewegung erleichterte. Dieses war umsomehr notwendig, weil man bei starker Vergrösserung (Oel-Immersion) beobachten muß, bei welcher die Tiefe des Fokus sehr klein ist. Außerdem war es notwendig, die Hand mit der Mikroskopschraube gut vertraut zu machen, was um so schwerer war, weil eine sehr große Geschwindigkeit bei der Beobachtung nötig war, da die Drehungen entgegengesetzte waren; z. B. wenn konstatiert war, daß sich der erscheinende Organismus im Sinne des Uhrzeigers drehe, so mußte man die Schraube des Mikroskops, um den Organismus im Fokus des Mikroskops zu behalten und um zu bestimmen, wohin er sich dreht — nach oben oder nach unten — in der Richtung gegen den Uhrzeiger drehen. Ein kleiner Fehler, sogar die kleinste Schwankung beim falschen Drehen der Mikroskopschraube genügt, um den Organismus außer Sicht zu bringen und eine mißlungene Beobachtung herbeizuführen. Die Tiefe des Fokus zeigte dabei einen wesentlichen Nutzen, indem sie die Beobachtungen beim Studium der stark gekrümmten Organismen erleichterte. Die Drehungen dieser Organismen sind ziemlich deutlich zu sehen, sogar wenn sie mehr im Fokus des Mikroskops sind. Man braucht nur bei einer mittleren Stellung des Mikroskops zu bestimmen, 1) nach welcher Seite sich ein vertikal drehender Organismus dreht, und 2) in welcher Reihenfolge sich die Umwandlung des Organismus aus einem glänzenden in einen dunkeln vollzieht. Wenn sich z. B. der Organismus aus einem glänzenden in einen dunkeln verwandelt, und er sich nach rechts dreht, so ist die Spirale eine linke. Bei diesen Bestimmungen braucht man gar nicht die Mikroskopschraube zu drehen, sondern man braucht nur auf die gekrümmtesten großen Organismen zu warten, welche sich am vertikalsten bewegen (von einem Glase zum andern hinüberhüpfen). Die Drehungen solcher Organismen sind gewöhnlich langsame, was die Beobachtungen natürlich erleichtert.

In den Präparaten, welche eine Zeit lang in einer feuchten Kammer gewesen sind, sammeln sich die Organismen in einen dichten, dem Rande des Deckglases oder der Linie der Wasseroberfläche ziemlich parallelen Streifen an. Hier ist es am besten, die Organismen zu beobachten, indem man sich die geeignetesten in der Nähe des Streifens auswählt. Jedoch mußte man zuweilen, ungeachtet des Ueberflusses an Organismen, sowohl freier, als auch befestigter, recht lange auf ein geeignetes Objekt warten, d. h. auf einen stark gekrümmten Organismus. Während dessen befinden sich im Gesichtsfelde solche Organismen befestigt, welche sich ruhig drehen und kaum die Absicht haben, sich loszureißen. Um letzteres aber doch zu bewirken, klopfte ich auf das Tischchen des Mikroskops leicht mit dem Finger (1—3 mal) mit gleicher Intensität und Abruption wie bei der Perkussion auf, wodurch man fast alle befestigten

Organismen zum Abreißen bringen kann. Während dieser Zeit fährt man fort ins Mikroskop zu sehen, um das betreffende Objekt nicht außer Sicht zu bekommen, nach dem Schlage findet man ihn in der Entfernung von mehreren μ vom Befestigungspunkte.

Nach vielen Beobachtungen der Bewegungen sowohl an jungen ovalen[1]), als auch an alten kam ich zu folgenden Schlüssen:

Alle Organismen, ohne Ausnahme, drehen sich

1) bei der Bewegung nach oben in der Richtung des Uhrzeigers,

2) bei der Bewegung nach unten in entgegengesetzter Richtung.

Hiermit haben wir bewiesen, daß 1) die Bewegung der Organismen in Bezug auf den Befestigungspunkt eine stoßende, daß 2) folglich die Spirale eine linke ist und 3) daß sich der Organismus nach der Theorie der Schraube dreht.

V. Drehungen der Organismen um ihre Achsen.

Bei Beobachtung der Schwefelkörner kann man sehr leicht die Drehungen der Organismen um ihre Achsen wahrnehmen. Die Rotationsbewegungen der freien Enden der befestigten Organismen, welche zuweilen einer konischen Schwankung sehr ähnlich sind, sind nichts anderes als das Resultat dieser Drehung. Thatsächlich haben Beobachtungen erwiesen, daß die Drehungen des Organismus und die Rotationsbewegung des freien Endes sich in einer und derselben Richtung und mit einer und derselben Geschwindigkeit vollziehen (während einer ganzen Wendung des Organismus macht sein freies Ende ebenfalls eine ganze Wendung). Bei einer völlig perpendikulären Befestigung am Glase und bei einer kleinen Krümmung des Organismus verschwindet der konische Charakter der Schwankungen und es bleibt nur die Drehung übrig.

Folglich ist die scheinbare konische Schwankung nur das Resultat 1) der Drehung des Organismus um seine lange Achse, 2) seiner größeren oder kleineren Krümmung und 3) der größeren oder kleineren Regelmäßigkeit seiner Befestigung.

Ich unterscheide 3 Drehungsgeschwindigkeiten bei den befestigten Organismen:

1) schnelle Drehung, wenn der Organismus 2—3 Wendungen in 1 Sek. macht,

2) mittlere Drehung, 1 Wendung oder einwenig mehr ($1^1/_3$),

3) langsame Drehung, $^1/_2$ (oder weniger) Wendung.

Bei den freien Organismen erreicht die Drehung bei der Bewegung 5—7 und mehr Wendungen pro Sek. Von den typischen konischen Schwankungen wird seiner Zeit die Rede sein.

VI. Befestigung und Losreißen.

Die Befestigung des Organismus geschieht folgendermaßen: Der schwimmende Organismus „wirft" sich plötzlich sehr schnell in gerader Linie nach irgend einem Punkte. Auf den frischen Präparaten,

1) Beobachtungen der Bewegungen der jungen ovalen Schwefelbakterien kann man nur nach den Schwefelkörnern anstellen.

wo die Bewegungen der Organismen sehr schnelle sind, erhält das „Werfen“ eine solche Geschwindigkeit, daß man die Organismen aus den Augen verliert; die Länge des Weges des „Werfens“ ist in einigen Fällen mehrfach länger als die Länge des Organismus. Hierbei kann man sich nur schwer einen Begriff von der Art der Befestigung machen. Aber auf den Präparaten, welche eine Zeit in der feuchten Kammer gelegen haben, werden die Bewegungen langsamer, der Weg des „Werfens“ ist bedeutend kürzer, das „Werfen“ selbst geht nicht so schnell vor sich, und in einigen Fällen (sehr selten) ist es sogar nicht zu konstatieren. Hier kann man ohne Schwierigkeit sehen, daß bei der Befestigung auch der befestigte Organismus in derselben Richtung, in welcher er herausschwamm, zu drehen fortfährt. Nach der Befestigung wird die Drehungsgeschwindigkeit sogleich um das Doppelte und noch mehr verringert (z. B. von 6—10 mal pro Sek. auf 2 oder 3 mal). Die Organismen heften sich mit irgend einem ihrer Enden sehr fest an, indem sie recht stark an den Gegenstand anstoßen, wozu ihnen das „Werfen“ dient.

Es ergiebt sich daraus: 1) daß sich der Organismus zur Befestigung an einen Gegenstand wirft und an demselben mit einer gewissen Kraft anstößt; 2) gleich nach dem Befestigen wird die Drehungsgeschwindigkeit, ohne die Richtung zu verändern, verringert; bemerke, daß bei diesen Organismen ein Unterschied zwischen den beiden Enden besteht.

Das Losreißen geschieht viel komplizierter, je nachdem das Befestigen ein schwächeres oder stärkeres ist und je nach der verschiedenen Lebensfähigkeit des Organismus.

1) Das einfachste ist das direkte Losreißen infolge der Veränderung der Drehungsrichtung des Organismus. Diese Art des Losreißens findet man bei den Organismen, die auch nach der Befestigung sich schnell (mehr als 5 mal pro Sek.) zu drehen fortfahren, und sich nicht auf längere Zeit festsetzen, sondern nur auf einige Augenblicke und die sich sofort wieder losreißen, um sich an einen anderen Punkt zu werfen, von dem sie wiederum sich losreißen u. s. w., bis sie sich beruhigen und auf längere Zeit festsetzen.

2) Die häufigste Form des Losreißens findet sich bei solchen Organismen, die sich am Deckgläschen befestigt haben, sich folglich in der Richtung des Uhrzeigers drehen und eine stoßende Drehung haben. Vor dem Losreißen zeigt sich eine verstärkte Drehung in der Richtung des Uhrzeigers mit mehr als 5 Wendungen pro Sekunde, folglich ist das Drehen ein stoßendes, aber kein losreißendes. Die Drehung erreicht zuweilen eine solche Geschwindigkeit, daß sich langsame konische Schwankungen des Organismus in entgegengesetzter Richtung der Drehung bilden, d. h. gegen den Uhrzeiger[1]).

---

1) Diese konischen Schwankungen ähneln einem Brummkreisel, der an einem Faden hängt, wenn die Achse des sich drehenden Brummkreisels zum Faden geneigt ist. Nachdem ich in einigen Fällen eine ähnliche Schwankung für die betreffenden Schwefelbakterien bestimmt hatte, habe ich in allen den Fällen, wo die Drehung eine zu schnelle war und man sie daher nicht bestimmen konnte (sehr oft bei jungen Organismen), angenommen, dafs die Drehung und die konische Schwankung sich in entgegengesetzten Richtungen vollziehen.

Durch solche momentane Veränderung der Drehungsrichtung in eine entgegengesetzte reißt sich der Organismus zuweilen ruhig, zuweilen aber auch mit einer starken Bewegung los und schwimmt fort.

Die losreißenden Bewegungen waren in einigen Fällen so stark, daß der sich losreißende Organismus auf ziemliche Entfernung zur Seite flog, wobei das Ende, mit welchem er befestigt war, weiter als das freie Ende fortgeschleudert wurde. Einige Augenblicke blieb der Organismus dann unbeweglich, als ob er betäubt wäre, aber nachher fing er wieder an sich munter zu bewegen und verschwand. Aehnliche Bilder des Wegschleuderns beim Losreißen charakterisieren die Wirkungsart der reißenden Kräfte selbst. Es scheint, daß die losreißenden Bewegungen in seltenen Fällen erfolgen, auch durch leichte Krümmung des Organismenkörpers.

Diese Krümmungen sind übrigens nur bei vertikaler Lage des Organismus wahrzunehmen.

3) Vor dem Losreißen findet langes und sehr schnelles Drehen in entgegengesetzter Richtung (also gegen den Uhrzeiger) statt, denen infolge momentaner Hemmung des Drehens einige passive breite konische Schwankungen (in der Richtung des Uhrzeigers) folgen, infolge deren der Organismus nicht mehr so fest sitzt, so daß die langsamste Drehung in der Richtung gegen den Uhrzeiger genügt, um den Organismus völlig zu befreien.

An den jungen ovalen (kleinen) Individuen kann man, wenn auch mit Mühe, wahrnehmen, daß bei der Befestigung die Drehung des heranschwimmenden Organismus sich ein wenig verringert, aber die Richtung im Sinne des Uhrzeigers verändert sich nicht. Beim Losreißen erreicht die entgegengesetzte Drehung gewöhnlich eine solche Geschwindigkeit, daß man die Drehungsrichtung genau bestimmen kann. Der in dieser Periode losgerissene Organismus verschwindet sehr bald aus dem Gesichtsfelde, indem er sich nach unten entfernt.

Sitzt der Organismus sehr fest an, so gelingt es ihm nicht, sich auf einmal loszureißen, und zuweilen kann er das überhaupt gar nicht erreichen. Dann finden alternierende schnelle Bewegungen bald nach der einen, bald nach der anderen Richtung statt. Perioden fast völliger Ruhe fallen auf solche mit außerordentlich beschleunigten Drehungen. Endlich reißt sich der Organismus los oder fängt an sich ruhig zu drehen, oder nach mehreren Versuchen, welche von Ruheperioden (1—2 Wendungen pro Sek.), aber zuweilen auch völlige Unbeweglichkeit, abgelöst werden, wird sein Drehen immer langsamer und langsamer, bis zuletzt der Organismus umkommt.

Folglich dreht sich der heranschwimmende Organismus in einer bestimmten Richtung, die von der Art seines Gewindes abhängt. Bei der Befestigung fährt er fort, sich in derselben Richtung zu drehen, folglich drückt er auf seinen Befestigungspunkt. Beim Losreißen dreht er sich in entgegengesetzter Richtung, d. h. er ist bemüht, sich zu entfernen.

Nach dem schnellen Drehen kann man unter den befestigten ruhigen Organismen, welche sich $1^1/_2$—3 mal pro Sekunde drehen, sogleich solche bemerken, welche bemüht sind, sich loszureißen.

Die Befestigung geschieht wahrscheinlich mittels einer sehr dünnen Schleimschicht der Zellhaut.

VII. Befestigte und freie Organismen.

Die Organismen befestigen sich mit einem ihrer Enden, indem sie den Gegenstand fest berühren[1]). Sie thun das bald einzeln, bald in Gruppen von 2, 3 und noch viel mehr Individuen, was öfters vorkommt. Im letzteren Falle sitzen sie so dicht nebeneinander, daß zwischen den befestigten Enden, welche uns als Kreise erscheinen, durch welchen ihr Körper mit den Schwefelkörnern in der Tiefe glänzt, keine Zwischenräume bleiben. Die Körper der Organismen verbreiten sich nach allen Richtungen, was ihnen genügende Freiheit zum ununterbrochenen Drehen gewährt.

Der Bakterienstreifen, welcher, wie erwähnt, dem Glasrande oder der Wasseroberfläche ziemlich parallel ist, besteht zuweilen aus großen abgerundeten Bakterienansammlungen. Sie haben sich so dicht nebeneinander am Glase befestigt, daß sie als eine Ansammlung glänzender Kokken erscheinen, welche an der Peripherie von Spirillen umgeben sind. In dieser Dichte stören die Organismen einander, aber dennoch drehen sie sich ununterbrochen in einer und derselben Richtung, ohne jegliche Ausnahme. Es giebt gewöhnlich zwei Bakterienstreifen: der eine am Deckgläschen (mit Drehung der Organismen in der Richtung des Uhrzeigers), der andere am Objektträger (mit Drehung der Individuen gegen den Uhrzeiger).

Im Raume zwischen diesen Streifen schwimmen beständig freie Organismen umher. Diese Bewegungen werden dadurch erhalten, daß sich die Organismen bald losreißen, bald befestigen, denn im allgemeinen bleiben sie nicht lange in einer und derselben Lage. Die Befestigung dauert von einigen Sekunden bis zu Minuten und sogar mehreren Zehnern von Minuten. Eine zu lange Befestigung wird durch Merkmale der Organismenschwächung charakterisiert und endigt mit dem Tode.

Die Bewegungen dieser Organismen zeichnen sich, im Gegensatz zu vielen anderen Bakterien, durch bemerkenswerte Regelmäßigkeit, Gleichmäßigkeit und Abwesenheit von verschiedenem Beben aus. Die von den Organismen umschriebenen Wege können auf ziemlich weite Entfernungen geradlinig sein.

Die Geschwindigkeit der fortschreitenden Bewegung der Schwefelbakterien der Fontänenplatte, bei großen Vergrößerungen (300—500 mal) bestimmt, schwankt zwischen 0,022—0,036 mm pro Sekunde. Die Geschwindigkeit des „Werfens“ ist schwer zu bestimmen.

Das Umkehren der Organismen geschieht auf zweierlei Art: 1) die Organismen umschreiben einen weiten Bogen, so daß die Drehung ihr Zeichen nicht wechselt, oder 2) durch eine Rückbewegung ohne Beschreibung eines Bogens: der Orgismus ändert momentan seine Drehung in entgegengesetzter Richtung und bewegt sich längs derselben Linie zurück, wobei sich sein vorderes Ende in das hintere umwandelt.

1) Geißeln spielen hier keine Rolle; bald habe ich eine, bald zwei an den Enden und selten viele am ganzen Körper wahrgenommen.

Sehr interessant sind die Fälle des „Werfens“, welche nicht mit dem Befestigen enden. Der Organismus umschreibt weite Kreise und wirft sich plötzlich in streng gerader Linie zum Gegenstand und, ohne denselben zu berühren, schnellt er ebenso plötzlich in derselben geraden Richtung zurück und fährt fort, sich ruhig zu drehen oder sucht sich einen geeigneteren Platz zum Befestigen auf. Die Länge des Weges des „Werfens“ ist in diesen Fällen um viele Male länger als der Organismus selbst. Dieser Fall kommt oft bei den schwimmenden Stäubchen und anderen Körpern vor, welche wegen der Schwerkraft im Präparatwasser bei geneigter Lage des Mikroskoptischchens schwimmen. Diese Erscheinungen gehören zu den seltenen, gewöhnlich endet das „Werfen“ mit einer Befestigung, wenn auch nur auf einige Augenblicke.

Ich kann es als eine allgemeine Regel anführen, daß auf den Präparaten mit der Zeit mehr und mehr Organismen sich befestigen; die Befestigung währt immer längere und längere Zeit, das aufeinanderfolgende Losreißen wird immer seltener; die Bewegungen verlieren ihre Lebendigkeit und werden immer schlaffer; die Zahl der freien Organismen wird sehr gering; man findet viele tote Organismen unter den freien, als auch unter den befestigten; die letzteren legen sich beim Sterben platt aufs Glas [1]). Diese Aufeinanderfolge der Erscheinungen ist die Geschichte des Absterbens.

Normale, ungeschwächte Organismen befinden sich in einer ununterbrochenen Bewegung, die sitzenden, indem sie sich drehen, die freien, indem sie hin und her laufen, so daß in Bezug auf diese Schwefelbakterien L e b e n und B e w e g u n g S y n o n y m e sind.

S t e h e n b l e i b e n d e r O r g a n i s m e n. Einziges Beispiel einer völligen Unbeweglichkeit bei den freien und völlig normalen Organismen ist ihr Stehenbleiben für einige Augenblicke (nicht mehr als 1—1,5 Sek.) im freien Wasserraume. Dieses Stehenbleiben ist recht selten. Die Uebergänge von Bewegung zur vollen Ruhe und umgekehrt von der Ruhe zur Bewegung sind sehr scharfe. Das Stehenbleiben geschieht momentan und daher kann es nicht vorausgesehen werden.

Ein zweites Beispiel einer vollen, ebenso kurzen Unbeweglichkeit ist die von mir schon erwähnte Unbeweglichkeit nach einer starken Anstrengung beim selbständigen Losreißen. Zwischen diesen Arten der Unbeweglichkeit ist ein ebensolcher Unterschied, wie zwischen der Unbeweglichkeit, welche durch Betäuben (z. B. durch einen Schlag) hervorgerufen ist und normaler Ruhe.

Zu Gunsten einer solchen Schlußfolgerung spricht, außer dem Charakter des beobachteten Bildes selbst, noch die Unbeweglichkeit, welche nach den Experimenten des künstlichen Losreißens vermittels eines Schlages mit dem Finger auf das Mikroskoptischchen eintritt. Daß diese Schläge schädlich sind, dafür spricht das Faktum, daß nach mehrmaliger Wiederholung der Experimente dieser Art eine

---

1) Von den letzteren sind nicht alle tot; wenn man sie berührt, oder wenn irgend eine Schwefelbakterie vorüberschwimmt, so fangen sie an, sich zu bewegen, indem sie mit ihrer Seite am Glase befestigt bleiben.

große Anzahl toter Organismen auftreten. Es ist merkwürdig, daß während des Stehenbleibens der normalen Organismen keine, nicht einmal die schwächsten Merkmale der Brown'schen Bewegungen beobachtet sind, obgleich die Dauer des Stehenbleibens genügend dazu wäre, während bei den toten Organismen sie recht deutlich ausgedrückt ist. Bei den geschwächten und sterbenden Organismen, bei welchen die Perioden der schlaffen Bewegungen von Perioden andauernder Unbeweglichkeit abgelöst werden, existieren die Brownschen Bewegungen, obgleich, wie es mir scheint, nicht so stark ausgedrückt, wie bei den toten Organismen.

VIII. Ursachen der Befestigung.

Untersuchen wir 1) die Stellen der Befestigung und 2) spezielle Beispiele der Schwefelbakterienbewegungen.

Als Befestigungsstellen können alle Objekte im Gesichtsfelde dienen, wie ganz reine Glasoberfläche, Stäubchen und Schwefelbakterien, die tot und am Glase angeklebt sind, und andere. Man kann auch, aber selten, Organismen beobachten, die sich an schwimmenden Gegenständen befestigt haben.

Mit einem Worte, die Befestigungsstellen sind sehr verschieden und geben absolut keine Andeutungen von den hier wirkenden Ursachen.

Spezielle Beispiele der Schwefelbakterienbewegung. An einigen Stellen beobachtet man die größte Häufigkeit des „Werfens“ mit der größten Zahl von befestigten Organismen. Zuweilen wirft sich ein Organismus so pfeilschnell und so direkt an den Befestigungspunkt eines anderen Organismus (gewöhnlich reines Glas), daß man sich rein wundern muß, wie er denselben nicht aus der Position bringt. Man konnte Fälle beobachten, wo solches Werfen, welches oft den Charakter echter Ansaugungen trägt, von einem und demselben Organismus bis 3 mal wiederholt wurde. Der Prozeß war folgender: Ein Organismus warf sich an einen Punkt, riß sich jedoch gleich los, umschrieb einige Bogen, indem er, zuweilen den befestigten Organismus berührend, zurückschwamm, sich von neuem an den Punkt warf u. s. w. Interessant ist es, daß das „Werfen“ nicht in den Momenten der kürzesten Entfernung des Organismus vom Befestigungspunkte, sondern gerade umgekehrt und dabei von verschiedenen Seiten geschieht.

Oft beobachtet man mehrmaliges „Werfen“ an verschiedene Stellen mit keiner andauernden Befestigung an jeder von ihnen.

Wenn es vorkommt, daß ein Organismus am anderen haften bleibt, so fangen sie an, stark zu beben, bis sie sich losgerissen haben und in entgegengesetzten Richtungen zu einander weggeschwommen sind. Jedoch dieser Umstand hindert sie nicht, sich recht eng nebeneinander zu befestigen.

Ich war bemüht, zu bestimmen, woher der Impuls zum Befestigen kommt. Mit einem Fingerschlage habe ich die befestigten Organismen losgerissen. Viele von ihnen befestigten sich von neuem, öfter an neuen Stellen, und, wie es schien, ohne jegliche Ausnahme. Indem ich einen von ihnen auswählte, habe ich ihn wiederum und

wiederum zum Losreißen gebracht. Im Anfange befestigte er sich sogleich recht schnell, aber darauf schwamm er eine längere Zeit, was ich durch Hin- und Herrücken des Präparats längere Zeit beobachten konnte.

Der größte Teil der Beobachtungen spricht, wie ich mich überzeugt habe, gegen die Erklärung, daß bei der Befestigung chemische Ursachen mitwirkten, vielmehr scheinen biologische Ursachen hier zu wirken. Daher tragen auch die Erscheinungen selbst einen willkürlichen Charakter.

Die willkürlichen Eigenschaften der Befestigungen und des Losreißens selbst sind im Reiche der Bakterien außergewöhnlich.

Wir haben hier die Eigenschaften dieser Schwefelbakterie unter den Bedingungen eines homogenen Mediums studiert, was viel komplizierter ist bei Kulturen und bei der Bildung von „Bakterienhaufen“. Schon die Beobachtungen über den Mechanismus des Baues der Platte (die Rolle der sitzenden Schwärme) oder die Senkungen (gehörnte Fontaine in den schmalen Gefäßen und die ihnen entsprechenden Bilder in den breiten Gefäßen) u. s. w. beweisen die große Komplikation der Erscheinungen. Das Studium der Schwärme zeigt uns noch etwas Neues, nämlich die Anziehung der Organismen aufeinander, wenigstens in dem Falle, wenn sie Haufen bilden und sich unter anormalen Verhältnissen befinden.

Schlußfolgerungen.

1) Die Schwefelbakterien der Fontaineplatte besitzen die Eigenschaft, sich nach Belieben zu befestigen und loszureißen.

2) Alle Organismen, ohne Ausnahme, sind gleich gebaut und stellen eine linke Spirale dar.

3) Die Organismen drehen sich nach der Theorie der Schraube, folglich bei der Annäherung in der Richtung des Uhrzeigers, aber beim Entfernen in entgegengesetzter Richtung, dem Baue der linken Spirale entsprechend.

4) Zum Zwecke der Befestigung werfen sie sich sehr schnell, stoßen an einen Punkt und befestigen sich an demselben. Die Drehungsgeschwindigkeit wird zugleich gehemmt, ohne das Zeichen zu verändern.

5) Folglich sich befestigend, fahren sie fort, sich unaufhörlich in derselben Richtung zu drehen, in welcher sie sich beim Heranschwimmen gedreht haben. Diese Drehung ist eine stoßende und auf den Befestigungspunkt drückende. Hieraus geht die völlige Einheitlichkeit im Drehen (in einer und derselben Richtung) aller gleich befestigter Organismen hervor.

6) Beim Losreißen drehen sie sich in entgegengesetzter Richtung (reißende Bewegung). Zuweilen gehen dem Losreißen eigenartige Bewegungen voraus, die den Charakter solcher Bewegungen tragen, welche den Befestigungsgrad schwächen.

7) Experimente des künstlichen Losreißens (Schlag mit dem Finger) zeigen, daß die Befestigungskraft eine bedeutende ist. Zuweilen ist sie größer als die Kraft des Organismus.

8) Die Befestigung und die Drehung der befestigten Organismen werden nur genügend durch die Eigenschaften der Befestigungen durch Schleime erklärt.

9) Die Befestigung und das Losreißen tragen den Charakter von grundlosen und willkürlichen Erscheinungen.

10) Leben und Bewegung sind für diesen Organismus Synonyme.

Nowo-Alexandria b. Warschau (Rußland), den 10. Juni 18[illegible]6.

Original-Referate aus bakteriologischen und gärungsphysiologischen Instituten, Laboratorien etc.

Wissenschaftliche Station für Brauerei in München.

Vergleichende Untersuchungen an vier untergärigen Arten von Bierhefe [1].

Von

Dr. H. Will.

V. Die Dauerzellen.

Besonderes Interesse erregten schon bei Beginn der vergleichenden Untersuchungen über die Kahmhautbildung bei den vier untergärigen Bierhefen die konstant und vorherrschend im Hefering, aber auch, wie gezeigt wurde, in verschiedenem Maße in der Haut auf der Oberfläche der Nährflüssigkeit auftretenden rundlichen Zellen mit stark verdickter Membran, reichem Gehalt an Glykogen und Oeltröpfchen, sowie ohne oder mit nur sehr wenigen kleinen Vakuolen.

Wenn man sich vergegenwärtigt, in welcher Weise in Würzekulturen der Hefering entsteht und wie sich derselbe oberhalb des Flüssigkeitsniveaus ausbreitet, so wird es ohne weiteres klar, daß in demselben Maße, als derselbe an Flächenausdehnung zunimmt und der obere Rand desselben sich von der Flüssigkeitsoberfläche entfernt, die Ernährungsbedingungen für die Zellen schlechter werden.. Wenn auch die schleimige Zwischensubstanz, in welche dieselben eingebettet liegen, durch Aufsaugen von Flüssigkeit die Zellen mit Nährlösung versorgt, so wird doch wohl die Ernährung nicht mehr so günstig sein, wie wenn dieselben direkt mit der Flüssigkeit in Berührung stehen. Hierzu kommt noch, daß die Nährlösung durch die vorausgegangene Gärung eine durchgreifende Veränderung erfahren hat, durch welche derselbe, wie sich aus dem Verhalten der Zellen des Absatzes ergiebt, ungünstig in Beziehung auf ihren Nährwert wenigstens für diese Entwickelungsform der Hefe beeinflußt wird. Allerdings

---

1) Nach „Mitteilungen der wissenschaftl. Station für Brauerei in München" in Zeitschrift f. d. gesamte Brauwesen. XVIII. 1895. No. 27—38. Mit 1 Tafel. Vergl. hierzu das Referat in d. Centralbl. 2. Abteil. Bd. I. p. 449.

ist hierbei auch in Betracht zu ziehen, daß diese Veränderungen der Nährlösung wieder durch die allmählich absterbenden Hefezellen des Absatzes kompensiert werden. Außerdem befinden sich die Zellen des Heferinges in anderer Beziehung gegenüber den Mutterzellen, denen sie in letzter Linie ihre Entstehung verdanken, unter völlig veränderten Verhältnissen. Während diese im Verlauf der Gärung in einer Flüssigkeit dem Einfluß des Sauerstoffes in sehr wechselnder Weise ausgesetzt waren, wirkt auf die in der schleimigen Zwischensubstanz eingebetteten Ringzellen die Luft in gleichbleibendem Maße konstant ein.

Gleichwohl speichern die rundlichen Zellen des Heferinges ebenso wie die nach der lebhaften Gärung allmählich in einen gewissen Ruhezustand übergehenden Zellen des Hefenabsatzes unter diesen Verhältnissen in der Regel Glykogen und Fettsubstanzen unter gleichzeitiger Verdickung der Haut auf.

Abgesehen davon, daß die auf der Flüssigkeitsoberfläche von den Kräußenausscheidungen zurückgehaltenen Zellen direkt mit der Nährflüssigkeit in Berührung stehen, wirken auf dieselben die gleichen Einflüsse wie auf die Zellen des Heferinges; sie kommen in der angedeuteten allmählichen Veränderung der Zellen zum Ausdruck. Wenn hier diese Veränderungen nicht in dem Umfang wie im Hefering erfolgen, so findet dies sehr wahrscheinlich seine Erklärung in dem im Vergleich zum Hefering sehr raschen Auftreten von echten Kahmhautzellen, durch welche die anfangs zurückgehaltenen Zellen und deren Tochtergenerationen den veränderten Verhältnissen entsprechend in den Hintergrund gedrängt werden. Daß unter Umständen völlig gleiche Erscheinungen wie im Hefering in sehr ausgedehntem Maße auch auf der Flüssigkeitsoberfläche auftreten können, ergiebt sich aus den Beobachtungen bei Stamm 93. Bei dieser Hefe, welche langsamer als die übrigen in die Kahmhautgeneration übergeht, ist eine sehr lang andauernde, reiche Vermehrung der von den Kräußenausscheidungen zurückgehaltenen Zellen und deren starke Membranverdickung sehr charakteristisch.

Die Zellen der untergärigen Bierhefen gehen unter dem Einfluß der angedeuteten Bedingungen in einen Zustand über, welcher sie ähnlich wie Sporen befähigt, ungünstige Verhältnisse leichter zu überwinden und trotz derselben lange Zeit die Lebensfähigkeit zu erhalten.

Es wurde schon früher [1]) darauf hingewiesen, daß, wenn alle anderen beschriebenen Zellgenerationen der vier Hefenarten aus älteren Kulturen abgestorben sind, sich unter den rundlichen, starkwandigen Zellen immer noch lebende befinden, welche den Ausgangspunkt einer neuen Vegetation bilden können. Sehr alte Würzekulturen, in denen unter gegebenen Verhältnissen weder eine Kahmhaut noch ein Hefering entwickelt wurde, enthalten im Hefenabsatz keine lebenden Zellen mehr. Dieselben können jederzeit zur Abimpfung mit Erfolg verwendet werden, solange mindestens ein Hefering vorhanden ist. Daß es die Dauerzellen des Heferinges sind, welche eine neue Vegetation einleiten, ergiebt sich mit voller Sicherheit dann, wenn außer

1) Zeitschr. f. d. ges. Brauw. 1895. No. 3. p. 20.

den starkwandigen, fett- und glykogenreichen Zellen andere, insbesondere Kahmhautzellen zweiter Generation überhaupt nicht vorhanden sind, wie dies zuweilen bei älteren Würzekulturen und auch anderen Kulturen vorkommt, oder wenn die anderen Zellengenerationen abgestorben sind. Ein sehr instruktives Beispiel bot in dieser Beziehung der Hefering einer sehr alten Kultur von Stamm 2 in einer mit Dextrin und Pepton versetzten mineralischen Nährlösung, welche in dieser Richtung eingehend untersucht wurde.

Die Hefezellen gehen also unter den angeführten Bedingungen in einen Dauerzustand über, wie derselbe auch bei manchen anderen Pilzen in ähnlicher Weise zuweilen unter besonderer Gestaltung der bereits vorhandenen oder unter Entwickelung besonderer Zellen zur Ausbildung kommt; dementsprechend erscheint auch die Bezeichnung der in Rede stehenden Hefezellen als „Dauerzellen" völlig gerechtfertigt.

A. Wo und unter welchen Verhältnissen wurden Dauerzellen bei den vier Arten von Bierhefe beobachtet?

In Beziehung auf das Vorkommen von Dauerzellen wurde schon früher mitgeteilt [1]), daß dieselben in Würzekulturen hauptsächlich im Hefering und hier vorherrschend am oberen Rand, aber auch in der Kahmhaut zur Ausbildung gelangen. In letzterer Beziehung zeichnet sich besonders Stamm 93 [2]) vor den übrigen aus, bei welchen nicht selten in den ersten Monaten die dünnen trockenen Häutchen auf der Flüssigkeitsoberfläche wesentlich aus Dauerzellen bestehen. Ueberhaupt vollzieht sich bei Stamm 93 der Uebergang in den als Dauerform angenommenen Zustand sehr leicht und in ausgiebiger Weise, in geringerem Umfang bei Stamm 7.

Nicht selten wurden auch Hefezellen, welche in ihrer morphologischen Erscheinung den Dauerzellen glichen, in den verschiedensten Infektionsherden im Brauereibetrieb, im Schleim von Gärkellerwänden, an Gärbottichen u. s. w. beobachtet.

In sehr ausgedehntem Maße und mit scharf ausgesprochenem Charakter traten Dauerzellen in zwei 9 Monate alten, zu anderen Zwecken mit Stamm 2 und in einer 1 Jahr alten mit Stamm 6 angestellten Kultur auf, welche 120 ccm Nährlösung von folgender Zusammensetzung erhalten hatte:

2,5	Proz.	Monokaliumphosphat,
0,85	„	krystallisierte, schwefelsaure Magnesia,
0,5	„	Zucker,
2,0	„	Asparagin.

In einer anderen, in gleicher Weise mit Stamm 2 angestellten Kultur, welche ebenfalls 9 Monate alt wurde, enthielt die Nährlösung an Stelle des Asparagins 2 Proz. Pepton und außerdem 3 Proz. Dextrin.

Der Niederschlag von Magnesiumphosphat war durch einen Zusatz von 0,5 Proz. Citronensäure verhindert worden. Die Nährlösung reagierte sehr stark sauer.

1) Zeitschr. f. d. ges. Brauw. 1895. No. 3. p. 20.
2) Zeitschr. f. d. ges. Brauw. 1895. No. 5. p. 38.

Jedenfalls waren, wie die Entwickelung der eingeimpften Hefezellen zeigte, die beiden Nährlösungen infolge ihrer hohen Konzentration, wesentlich wohl durch ihren hohen Gehalt an Mineralsalzen, ungünstig zusammengesetzt.

Waren die Dauerzellen in den Würzekulturen und in der Kultur mit der aus Mineralsalzen, Zucker, Pepton und Dextrin zusammengesetzten Nährlösung nur im Hefering, bezw. in der Kahmhaut, also auf und oberhalb der Nährflüssigkeit beobachtet worden, so traten sie im Gegensatz hierzu bei den Kulturen mit der Nährlösung, welche neben den Mineralsalzen nur Zucker und Asparagin enthielt, in der Nährflüssigkeit, am Boden der Kulturgefäße auf.

Der während der 9 Monate von Stamm 2 in letzterer Nährlösung gebildete weiße Hefenabsatz war sehr gering und von sandiger Beschaffenheit. Die lebenden Zellen waren im allgemeinen sehr gleichmäßig; sie besaßen fast ausschließlich Kugelform bei 8—9 μ Durchmesser. Zum größeren Teil waren sie isoliert, zum Teil auch zu kleinen Sproßverbänden von wenigen Individuen (2—6) vereinigt. Nicht selten standen die großen kugelförmigen Zellen mit kleineren, in den verschiedensten Entwickelungsstadien befindlichen Tochterindividuen von ebenfalls rundlicher Form in Verbindung. Letztere sproßten häufig von allen Seiten hervor (sog. Kronenbildung). Zuweilen waren die Tochterzellen wurstförmig oder hatten die Form eines gestielten Knopfes.

Unter den toten Zellen befanden sich nicht selten solche von 13—15 μ Durchmesser, also Riesenzellen, wie sie regelmäßig bei Stamm 7 im Bodensatz von Würzekulturen auftreten, aber auch bei einigen der anderen Hefen in der Kahmhaut von Würzekulturen beobachtet wurden.

In morphologischer Hinsicht stimmten die kugelförmigen Zellen völlig mit den als Dauerzellen bezeichneten im Hefering und in der Kahmhaut von Würzekulturen überein. Teilweise war der Uebergang in die Dauerform an den Sproßverbänden sehr gut zu verfolgen, indem bei den ältesten Gliedern bereits alle charakteristischen Eigentümlichkeiten zur Ausbildung gekommen waren, während das Aussehen der jüngsten Glieder noch mehr weniger demjenigen gewöhnlicher Bodensatzhefe glich.

Bei Stamm 6 war der Charakter der Dauerzellen in der äußeren Erscheinung teilweise nicht so scharf ausgeprägt wie bei Stamm 2. In dieser Beziehung herrschte völlige Uebereinstimmung mit den Kahmhäuten von Stamm 6 auf Würze, indem, wie früher bemerkt [1]), in diesen die Dauerzellen nicht so reichlich auftreten und nicht so scharf ausgeprägt sind wie bei Stamm 2.

Bemerkenswert ist, daß auch bei Stamm 6, welcher in Würzekulturen vorherrschend ovale Zellformen entwickelt und bei welchem die Zellen eine ausgesprochene Neigung besitzen, Wurstform anzunehmen, in der vorliegenden Nährlösung rundliche Zellen wie bei Stamm 2 gebildet werden, und daß auch die Dauerformen wie bei den übrigen drei Bierhefenarten in der Regel ausgesprochen kugelförmig sind.

1) Zeitschr. f. d. ges. Brauw. 1895. No. 7. p. 51.

Die zufällige Beobachtung über die Ausbildung von Dauerzellen in den genannten Kulturen gab Veranlassung, letztere zu wiederholen und in systematischer Weise zu untersuchen.

Die Zusammensetzung der Nährlösungen blieb in Beziehung auf die Mineralsalze die gleiche; auch enthielten dieselben ebensoviel Asparagin. In der ersten Versuchsreihe bekam jedoch die Lösung einen Zusatz von 10 Proz. Rohrzucker, in der zweiten einen solchen von nur 5 Proz. Zur Nährlösung I wurde außerdem zwecks Verhütung eines Niederschlages von Magnesiumphosphat wie früher 0,5 Proz. Citronensäure zur Nährlösung II jedoch 1,5 Proz. Weinsäure zugesetzt.

Schon früher als diese beiden eben angeführten war ebenfalls mit den vier untergärigen Bierhefenarten eine Versuchsreihe angesetzt worden, bei welcher die Nährlösung ursprünglich dieselbe Menge von Salzen, Asparagin und Zucker, wie Nährlösung II enthielt. Später wurden jedoch zu 500 ccm derselben 200 ccm einer 4-proz. Weinsäurelösung hinzugefügt.

Außer diesen drei Versuchsreihen war eine vierte mit Stamm 2 und 6 angesetzt worden, bei welcher eine Nährlösung von dem gleichen Gehalt an Mineralsalzen und Asparagin wie bei den übrigen, jedoch mit nur 0,5 Proz. Zucker verwendet wurde; der bei der Mischung der Salze in der Lösung ausgeschiedene Niederschlag von Magnesiumphosphat wurde in diesem Falle nicht gelöst.

Die Versuche wurden in der Weise durchgeführt, daß je 100 ccm der Nährlösung in einen Erlenmeyer-Kolben von 250 ccm Inhalt gebracht und im Dampftopf während einer halben Stunde sterilisiert wurden. Die Flüssigkeitsschicht hatte eine Höhe von durchschnittlich 3 cm. Jeder Kolben erhielt zwei Platinösen voll Hefe. Die Kulturen wurden bei Laboratoriumstemperatur aufgestellt.

Von jeder der dem Hefenabsatz aus den Kulturen nach Verlauf verschiedener Zeit entnommenen Probe wurden zur Beobachtung der Keimungserscheinungen an den Zellen und der Wachstumsformen der Kolonieen Gelatinekulturen angelegt. Außerdem wurden auch die Keimungserscheinungen in flüssigen Substanzen studiert.

Eingehende Studien über die Keimungserscheinungen der Dauerzellen aus dem Hefering, sowie über die Wachstumsform der aus den verschiedenen Zellgenerationen hervorgehenden Kolonieen auf festem Nährboden hatten bis zu einem gewissen Grade Anhaltspunkte für die Beurteilung der Mutterzelle, aus welcher die Kolonie hervorging, ergeben.

Die Resultate, zu welchen das Studium der vier Hefen in den vier Versuchsreihen führte, sind folgende:

Die in den ersten Tagen in den angewendeten Nährlösungen entwickelten Hefezellen zeigen mehr weniger den Typus der gewöhnlich in anderen Nährflüssigkeiten, insbesondere Würze, erzeugten Zellen. Die Zellmembran ist also nicht auffällig stark, der Zellinhalt ist im allgemeinen homogen und von verhältnismäßig wenigen stark lichtbrechenden Körnchen durchsetzt. Daß die gewöhnliche Form der Bodensatzhefe vorhanden ist, beweist in erster Linie das Auftreten von Sporen bei Stamm 93 im Versuch III. Auch die Wachstumserscheinungen auf festem Substrat sprechen hierfür, wenngleich in

dieser Beziehung auch noch andere Thatsachen berücksichtigt werden müssen. In Versuchsreihe I und IV waren die zuerst gebildeten Zellen, speziell bei Stamm 6 und 7, vielfach von abnormer Form.

Wenngleich in allen Versuchsreihen die Vermehrung der Hefe im Vergleich zu Würze eine geringe war, so traten doch noch Unterschiede zwischen den Versuchsreihen I und IV einerseits und II und III andererseits hervor. Trotz der geringen Menge von Zucker (5 Proz. bezw 4,1 Proz.) in der Versuchsreihe II und III mit Weinsäurezusatz war die Vermehrung der Hefe besser als in Versuchsreihe I mit Citronensäure und 10 Proz. Zucker. Am schlechtesten war naturgemäß die Vermehrung der Hefe in Versuch IV.

Die Form und die Größe der Zellen ist in den vorliegenden Nährlösungen mannigfacher als bei den in Würze während der gleichen Zeit entstandenen. Es waren bei allen vier Hefen Riesenzellen zugegen.

Früher oder später fand in den vier Versuchsreihen eine Neubildung von 8—9 μ großen Zellen, welche sehr häufig von e i n e r Mutterzelle in der Weise erzeugt worden waren, daß die Tochterzellen in großer Anzahl an den verschiedensten Stellen der Oberfläche derselben hervorsproßten und dann bis zur Größe der Mutterzelle heranwuchsen, in der Weise statt, daß sich die Membran verdickte und im Plasma eine sehr große Anzahl von Oeltröpfchen auftrat; außerdem wurde auch, jedoch nicht immer, Glykogen aufgespeichert. War die Membran sehr stark, so wurde an derselben nicht selten die Ablösung einer äußeren Schicht in verschiedenem Umfang beobachtet.

Die gleiche Umbildung erfuhren aber auch die einzelnen Glieder typischer Sproßverbände, und zwar in centrifugaler Richtung. In morphologischer Beziehung trugen alle diese Zellen in mehr oder minder scharf ausgeprägter Weise den gleichen Charakter wie die als Dauerzellen bezeichneten. Die Uebereinstimmung mit letzteren erstreckte sich aber nicht nur auf die morphologische und mikrochemische Seite, sondern auch die bei der Keimung und dem Auswachsen zu Kolonieen auf festem Substrat auftretenden Erscheinungen waren die gleichen wie bei diesen, so daß also die im Bodensatz der vorliegenden Nährlösungen entstandenen Zellen mit den im Hefering und in der Kahmhaut von Würzekulturen zur Ausbildung gelangten Dauerzellen als identisch betrachtet werden dürfen.

Die Umbildung in die Dauerform war in den verschiedenen Nährlösungen sowohl hinsichtlich der Zeit, nach Verlauf welcher dieselben auftraten, als auch hinsichtlich der Anzahl der Zellen, an welchen diese Umbildung vor sich ging, verschieden. Je günstiger die Nährlösung zusammengesetzt war — und in dieser Beziehung stand dieselbe, wenn aus der relativ stärkeren Vermehrung der Hefen ein Schluß gezogen werden darf, jedenfalls in den Versuchsreihen II und III mit Weinsäurezusatz derjenigen von Versuch I mit Citronensäurezusatz voran —, in desto größerer Anzahl wurden die Zellen der Alkoholgärungsform entwickelt und desto später gingen dieselben im allgemeinen in die Dauerform über und desto weniger scharf waren die morphologischen Merkmale in den jüngeren Kulturen ausgeprägt; erst in mehrere Monate alten Kulturen besitzen die überlebenden

Zellen in ausgesprochener Weise den Charakter von Dauerzellen. Je ungünstiger die Nährlösungen zusammengesetzt waren — und als solche müssen nach der geringen Vermehrung der Hefe diejenigen der Versuchsreihe I und IV betrachtet werden —, desto früher und in desto größerer Anzahl traten im allgemeinen die Dauerzellen mit allen charakteristischen Merkmalen in scharf ausgeprägter Weise auf.

Aus den vorliegenden Versuchen darf wohl auch geschlossen werden, daß ein Zusatz von Citronensäure einen ungünstigeren Einfluß auf die Hefe ausübt als Weinsäure. Die Menge des in der Lösung vorhandenen Zuckers ist ohne Einfluß auf die frühere oder spätere Umbildung der Alkoholgärungsform in Dauerzellen

Einen Einfluß auf das frühere oder spätere Erscheinen der Dauerzellen übt allem Anschein nach die Konzentration der Lösung aus.

In Uebereinstimmung mit den an Würzekulturen gemachten Beobachtungen erfolgt der Uebergang der Zellen vom Stamm 2 und 93 in die Dauerform mit typisch ausgebildeten Merkmalen früher und leichter als bei Stamm 6. Bei Stamm 7 sind es in den vorliegenden Nährlösungen ebenfalls nur vereinzelte Zellen, welche in morphologischer Beziehung, jedoch häufig mit gewissen Modifikationen, diesen Charakter annehmen. Uebrigens war auch hier die morphologische Umbildung der als Dauerzellen nach ihrem übrigen Verhalten anzusprechenden Zellen nach der Nährlösung verschieden.

Neben den Zellen in der Bodensatzhefe, welche nach ihrer Wachstumsform auf festem Nährboden, der Fähigkeit Sporen, zu bilden, sowie durch den Uebergang in Dauerzellen der Alkoholgärungsform zugerechnet werden mußten, fanden sich meist Sproßverbände kleiner Zellen, welche nach ihrer Form und Größe, sowie nach der Beschaffenheit des Zellinhaltes den Kahmhautzellen 1. Gen. ähnlich waren. Eine Identität mit letzteren war nicht zu erweisen, jedoch auch nicht unwahrscheinlich, nachdem bei lange fortgesetzter Beobachtung der Kulturen auch Kahmhautzellen 2. Gen. auftraten, und zwar mit den für die einzelnen Hefenarten charakteristischen Zellformen und im allgemeinen mit der gleichen Abstufung hinsichtlich der Entwickelung wie bei den Würzekulturen. In Versuchsreihe I entwickelte sich letztere Kahmhautgeneration sehr langsam und spät, bei Versuchsreihe II sehr rasch und stark, bei Versuchsreihe III dagegen langsamer als bei Versuch II. In Versuchsreihe I mit Citronensäurezusatz war die Entfaltung der Kahmhautzellen 2. Gen. eine weniger üppige als in den Versuchsreihen mit Weinsäurezusatz.

Während bei den Würzekulturen sich Kahmhautbildung auf und oberhalb der Flüssigkeitsoberfläche vollzog, spielte sich in den vorliegenden Nährlösungen die Entwickelung innerhalb derselben ab.

Alle Beobachtungen bestätigen die schon früher gemachten, daß immer zuerst die Gegenwart von Dauerzellen konstatiert wird, bevor die Kahmhautzellen 2. Gen., die Mycelform, auftreten. Wie in den Würzekulturen ist in den zu den Versuchen verwendeten Nährlösungen die Reihenfolge der einzelnen Zellgenerationen folgende: die Alkoholgärungsform, die Dauerzellen, Kahmhautzellen 2. Gen. oder die Mycelform. Neben der direkten Beobachtung deutet dies darauf hin, daß

die beiden letzteren in einem Abhängigkeitsverhältnis, in genetischem Zusammenhang, stehen.

B. Zur Morphologie der Dauerzellen.

Ebenso wie die Ausbildung der Dauerzellen in der nämlichen Kultur nicht vollkommen gleichartig ist, variiert dieselbe auch je nach der Nährflüssigkeit und den übrigen Bedingungen, unter welchen die Dauerformen entstanden.

Die als Dauerform gedeuteten Zellen besitzen vorherrschend Kugelform.

Die Größe der Dauerzellen schwankt je nach der Nährlösung innerhalb weiter Grenzen. In Würzekulturen ist dieselbe ziemlich gleichmäßig und beträgt durchschnittlich 8—9 μ; größere Abweichungen (6—13 μ) wurden in mineralischen Nährlösungen beobachtet; jedoch ist auch hier die Größe derselben durchschnittlich ziemlich gleichmäßig und derjenigen der Zellen in den Würzekulturen gleich.

Wenn auch die nach außen durch eine relativ breite, dunkle Kultur begrenzte Membran nicht in allen Fällen meßbar dick ist, so erscheint dieselbe jedoch unter allen Umständen stärker als diejenige der vegetativen Zellen. In extremen Fällen betrug der Durchmesser der Zellmembran 1 μ, häufiger wurden Werte von 0,7—0,9 μ erhalten.

Keine der vier untersuchten Hefearten zeichnete sich vor den anderen in irgend einer der verwendeten Nährlösungen durch besonders starke Wandungen aus; bei sämtlichen Hefen variierte die Dicke der Membran in dem gleichen Sinne.

Bei sehr starker Verdickung der Membran ist zuweilen eine Schichtung derselben wahrnehmbar. Noch deutlicher tritt dieselbe nach Behandlung mit konzentrierter Salzsäure hervor, wie überhaupt durch letztere vielfach erst eine Schichtung der Zellmembran in zwei Lamellen wahrnehmbar wird. Zuweilen gewinnt es den Anschein, als ob die Membran aus mehreren Lamellen zusammengesetzt sei.

Die Membran der Dauerzellen verhielt sich den verschiedensten Reagentien gegenüber wie die Membran der gewöhnlichen Bodensatzhefe. Bei Einwirkung von verdünnter Chromsäurelösung wurde eine größere Resistenz der äußeren Schicht beobachtet. Die größere Widerstandsfähigkeit trat sehr deutlich an solchen Stellen hervor, an welchen die äußere Membranschichte abgelöst war.

Die Dauerzellen aus dem Hefering einer 5 Monate alten Würzekultur färbten sich mit Hanstein'schem Anilingemisch äußerlich leicht an.

In den Würzekulturen war die Ablösung einer äußeren Membranschicht an den Dauerzellen verhältnismäßig seltener zu beobachten, als in den anderen Kulturen; im übrigen traten jedoch in beiden Fällen die gleichen Erscheinungen auf und zwar bei sämtlichen vier Hefen. Insbesondere ist hervorzuheben, daß dieselben auch bei Stamm 7, bei welchem die als Dauerformen gedeuteten Zellen häufig in ihrem Charakter etwas von demjenigen der anderen Hefen abweichen, gefunden wurden.

Auf die mannigfachen Formenerscheinungen der toten Zellen,

bei welchen die Trennung der stark verdickten Zellmembran in zwei Lamellen meist in viel größerer Ausdehnung als bei den lebenden stattgefunden hat, sowie auf den Inhalt derselben und dessen mikrochemisches Verhalten, über welche ausgedehnte Beobachtungen vorliegen, soll nicht näher eingegangen werden.[1])

Neben der Verdickung der Membran charakterisieren die Dauerzellen die stark lichtbrechenden Körperchen, die bis jetzt als Oeltröpfchen bezeichnet wurden. Der Inhalt der meisten Dauerzellen ist von einer sehr großen Anzahl dieser Körperchen von sehr kleinem Durchmesser durchsetzt. In manchen Zellen haben die Körperchen offenbar durch gegenseitige Verschmelzung an Größe zu- und gleichzeitig an Zahl abgenommen. Eine Ausnahmestellung in Beziehung auf die Menge dieser Inhaltsbestandteile nehmen die Dauerzellen bei Stamm 7 ein, indem stark lichtbrechende Körperchen zuweilen nur in verhältnismäßig geringer Zahl vorhanden sind.

Jedenfalls handelt es sich, wie insbesondere aus der Wirkung, welche durch einen Druck auf dieselben hervorgebracht wird, hervorgeht, bei diesen Inhaltsbestandteile um Gebilde von verschiedener, jedoch festerer Konsistenz und nicht um mehr weniger flüssige Tropfen.

Aus dem Verhalten der stark lichtbrechenden Körperchen gegenüber Osmiumsäure und Alkannatinktur geht hervor, daß dieselben wesentlich aus einer Fettsubstanz bestehen. Weiter ergiebt sich aus dem Verhalten gegenüber den Lösungsmitteln der Fettsubstanz, daß dieselben nicht immer einheitlich zusammengesetzt sind. Sie bestehen neben der Fettsubstanz sehr häufig aus einem letztere umschließenden feinhäutigen Bläschen, welches zuweilen auch noch durch ein Maschenwerk ausgefüllt ist. Das ganze nach der Extraktion des Fettes zurückbleibende Gerüst giebt alle Eiweißreaktionen.

Eine der wichtigsten Reaktionen der stark lichtbrechenden Körperchen besteht in deren Verhalten gegenüber konzentrierter Schwefelsäure.

Bei Einwirkung der letzteren auf die Dauerzellen werden zunächst die plasmatischen Bestandteile gelöst, die kleinen Körperchen fließen dann zusammen und bilden entweder einen oder mehrere Tropfen, welche meist durch die gequollene Membran hindurch entleert werden; bei sehr langsamem Zutritt der Schwefelsäure bleiben dieselben jedoch auch von der Zellmembran umschlossen, und ließ sich in diesem Falle der Verlauf der Reaktion gut verfolgen. Zunächst färbten sich die stark lichtbrechenden Tropfen in der Regel graugrün

---

1) Bemerkt sei nur in Hinsicht auf die kürzlich von P. Lindner gemachte Mitteilung: Beobachtungen über die Sporen- und Glykogenbildung einiger Hefen auf Würzekulturen etc. (d. Centralbl. l. J. No. 17. p. 539.), daß sich auch hier sehr häufig tote Zellen resp. Zellhäute vorfanden, welche nur mehr Glykogen, andere dagegen, welche neben Glykogen auch noch Oeltröpfchen eingeschlossen enthielten. Das Vorkommen von einzelnen oft sehr glykogenhaltigen Hefezellen in alten Kulturen ist ein allgemeines. Im Bodensatz von Würzekulturen und von verflüssigter Gelatine sind in der Regel diejenigen Zellen, welche die intensivste Glykogenreaktion geben, tot. Es sind dies, worauf ich schon früher aufmerksam gemacht habe. — Die Hefenzellen, deren Aussehen und Beschaffenheit in den verschiedenen Stadien der Entwickelung und des Zerfalles unter dem Mikroskop. (Allgem. Brauer- u. Hopfenztg. 1892. No. 67. p. 1090.) — Zellen, welche zu einer Zeit, als sie noch dicht mit Glykogen erfüllt waren, abstarben.

und zuletzt schwarzbraun. Vielfach fand jedoch auch eine Abweichung von diesem Verlauf der Reaktion in der Weise statt, daß sich die Tropfen sehr rasch braun, dann smaragdgrün, weiterhin blaugrün (Alizaringrün) und zuletzt blauschwarz färbten. Zuweilen trat auch bei längerer Einwirkung nur eine grünliche Färbung auf, ebenso wie auch häufig die smaragdgrüne ausblieb oder die stark lichtbrechenden Tropfen sich sofort prachtvoll smaragdgrün färbten.

Jedenfalls ist es sehr beachtenswert, daß die stark lichtbrechenden Körperchen in den als Dauerform gedeuteten Zellen unter allen Umständen, mögen letztere in der Kahmhaut, im Hefering oder innerhalb der Nährlösung zur Ausbildung gelangen, mit konzentrierter Schwefelsäure immer die gleiche Reaktion geben. Die Fetttröpfchen der Bodensatzhefe bleiben in allen Stadien der Entwickelung und des Zerfalles der Zellen ungefärbt.

Durch die Glykogenreaktion heben sich die Dauerzellen bei Jodzusatz von den übrigen Zellen, welche nicht in den Dauerzustand übergegangen sind, sehr scharf ab. Ausnahmen in Beziehung auf die Speicherung von Glykogen in den Dauerzellen kommen auch vor.

C. Ueber einige bei der Keimung der Dauerzellen auftretende Erscheinungen.

Die mikroskopische Untersuchung sehr zahlreicher Kulturen der Hefenarten in den verschiedensten Phasen der Entwickelung brachten in Beziehung auf die Art und Weise, wie die Dauerzellen auskeimten, eine Reihe von Erscheinungen zur Beobachtung, welche Veranlassung gaben, die Keimung derselben näher zu studieren. Insbesondere erregte das häufige Auftreten von Querwänden innerhalb der Tochterzellen das Interesse. Anfangs gewann es den Anschein, als ob es sich nur um abnorme mehr zufällige Erscheinungen handle. Eingehende systematische Studien bewiesen aber, daß es eine sehr charakteristische normale und nur den als Dauerform gedeuteten Zellen der 4 Hefenarten zukommende Erscheinung sei. Eine weitere Reihe von Keimungsformen scheint durch die starke Verdickung der Zellmembran bedingt zu sein.

Die Beschaffenheit der Nährlösung übt auf die Form der Tochterzellen, insofern dieselbe eine bestimmte Generation der Hefe repräsentiert, einen Einfluß aus, indem bei der Keimung bald die eine, bald die andere der Generationen vorherrschend oder allein zur Entwickelung kommt. Es fand dies auch in der Wachstumsform der Kolonieen auf festem Nährboden Ausdruck.

In der Regel bestanden die nach 3—4 Tagen bei Laboratoriumstemperatur von den Dauerzellen in Form von dichten Knäulen fest aneinander haftenden Zellen gebildeten Sproßverbände aus rundlichen Individuen. Dabei wurde neben der in gewöhnlicher Weise erfolgenden Sprossung sehr häufig ein gleichzeitiges oder nahezu gleichzeitiges Auskeimen an den verschiedensten Stellen der Oberfläche der Mutterzelle beobachtet, und entstehen eben hierdurch die dichten Knäule von rundlichen, gleichmäßig großen Zellen. Es kehrten also beim Keimversuch dieselben Erscheinungen wieder, welche so vielfach an

den Dauerzellen im Hefering bezw. im Bodensatz der mineralischen Nährlösungen beobachtet wurden.

Alles deutet jedoch darauf hin, daß diese Art der Keimung nur bei Dauerformen mit nicht zu stark verdickter Membran erfolgt.

Die rundlichen Tochterzellen scheinen nach der Wachstumsform der Kolonieen auf festen Nährböden nicht gleichwertig zu sein.

Eine sehr charakteristische Art der Keimung besteht darin, daß aus der Dauerzelle zunächst eine keimschlauchartige oder keulenförmige Tochterzelle mit breiter Basis hervorsproßt. Die Tochterzelle wird im ersteren Falle häufig knopfförmig. Innerhalb der keulen- und wurstförmigen Zellen tritt dann nicht selten eine Querwand nahe der Spitze der Zelle auf; wurstförmige Zellen erscheinen zuweilen durch die Querwand in 2 gleiche Hälften geteilt. In einem Falle wurden bei Stamm 2 innerhalb einer keulenförmigen Tochterzelle sogar 2 Querwände beobachtet. Daß es sich hierbei nicht bloß um eine Verschiebung der die Mutterzelle von der Tochterzelle trennenden Querwand nach letzterer hinein handelt, wie P. Lindner[1]) anzunehmen scheint, geht wohl daraus hervor, daß die Zelle, in welcher die Querwand auftritt, nach den benachbarten Zellen ebenfalls durch eine Querwand abgeschlossen sein kann.

Die bei der Keimung auftretende Querwandbildung wiederholt sich bei den späteren Tochtergenerationen und entstehen auf diese Weise Sproßverbände aus wurst- oder keulenförmigen Zellen, welche durch eine Querwand geteilt sind. Es wurde überhaupt vielfach die Beobachtung gemacht, daß, wenn einmal bei der Keimung der Dauerzellen innerhalb der ersten Generationen der Tochterzellen Querwände aufgetreten sind, dieselben auch noch in den spätesten Generationen zur Ausbildung gelangen.

Sehr häufig wurde, speziell auch bei der Keimung auf festem Nährboden eine Spaltung der innerhalb der Tochterzellen aufgetretenen Querwände wahrgenommen.

Die direkte Keimung der Dauerzellen mit keulen- oder wurstförmigen Zellen, in welchen nachträglich eine Querwand auftritt, erfolgt im Vergleich zur Keimung mit rundlichen Zellformen seltener; sie kann allerdings auch sehr häufig sein. Bei den Dauerzellen aus Würzekulturen sprossen sowohl im Bier wie in Würze keulenförmige Zellen mit Querwänden nur selten hervor.

Bei jüngeren Kulturen in den mineralischen Nährlösungen trat diese Form der Keimung gleichmäßig seltener auf als in älteren.

Bei der Keimung der Dauerzellen in den Objektträgerkulturen kehrten dieselben Zellformen und Verbindungen wie in den Kahmhäuten und im Ring von Würzekulturen, sowie in den mineralischen Nährlösungen wieder.

In den unzählbaren, im Laufe der Jahre durchgesehenen Präparaten der Bodensatzhefe der 4 vorliegenden untergärigen Bierhefen, welche unter den verschiedenartigsten Verhältnissen (in Würze- und Hefezuckerwasserkulturen im Laboratorium, im Propagierungsapparat, in

1) Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. Berlin (Parey) 1895. p. 176.

der Brauerei etc.) gewachsen war, fand sich niemals eine derartige Querwandbildung innerhalb einer durch Sprossung erzeugten Zelle. Das Auskeimen mit Querwandbildung in den Tochterzellen kann also als diagnostisches Merkmal der Dauerzellen verwertet werden.

Bei der von P. Lindner[1]) gemachten Mitteilung über Querwandbildung bei Betriebshefen handelt es sich jedenfalls teilweise nicht um eine innerhalb der Zellen auftretende Querwand, sondern um Tochterzellen, welche der Mutterzelle mit sehr breiter Basis aufsitzen; es deutet hierauf die mehr oder weniger starke Einschnürung der Zelle hin, welche sich an der Peripherie der Wand befindet.

Bezüglich anderer bei der Keimung der Dauerzellen auftretenden Erscheinungen sei auf die ausführlicheren Mitteilungen im Original hingewiesen.

Referate.

Pfeffer, Wilh., Ueber die lockere Bindung von Sauerstoff in gewissen Bakterien. (Abdruck aus den Berichten der mathematisch-physischen Klasse der Königl. Sächs. Gesellschaft der Wissenschaften zu Leipzig. Sitzung vom 27. Juli 1896. 5 p.)

Die Mitteilung berichtet über diesbezüglich von Ewart im Leipziger botanischen Institute angestellte Untersuchungen.

In der Regel speichert die Pflanzenzelle keinen locker gebundenen Sauerstoff auf, so daß z. B. die Protoplasmaströmung im sauerstofffreien Raume sehr bald aufhört. Verf. machte nun die theoretisch bedeutungsvolle Entdeckung, daß es neben farbigen auch farblose Bakterien giebt, welche wie das Hämoglobin, eine erhebliche Sauerstoffmenge in der Weise locker zu binden vermögen, daß der Sauerstoff allmählich bei einem Aufenthalte der Organismen im sauerstofffreien Raume wieder abgegeben wird. Relativ stark O bindend wirken z. B. Bacterium brunneum, cinnabareum, Micrococcus agilis, Staphylococcus citreus, Bacillus janthinus, während Diplococcus roseus, Sarcina rosea und lutea viel schwächer wirksam wirksam sind. Als Reagens auf Sauerstoffabgabe diente das Schwärmen von Bacterium termo. In einen kleinen Hängetropfen am Deckglas einer kleinen Gaskammer wurde das B. termo gesetzt, während das zu prüfende Objekt auf den Boden der Kammer gebracht wurde. Nun wurde evakuiert und mit Wasserstoff ausgewaschen, bis das B. termo bewegungslos war. Wenn nun der zu prüfende Organismus O abgab, so trat neuerlich Bewegung des B. termo ein. Da das Reagensbakterium auch nach wiederholtem Auswaschen der Kammer immer wieder in Bewegung geriet, so war dadurch bewiesen, das die eingebrachten Organismen Sauerstoff produzierten. So kann man auch zeigen, daß Hämoglobin, Holzkohle in analoger Weise O

1) Wochenschr. f. Brauerei. 1893. No. 51. 1354.

abgeben. Diese O-Abgabe kann bei den untersuchten Bakterien bis 12 Stunden lang andauern. Gleichzeitig wird CO_2 abgegeben, wie die Entfärbung einer eingebrachten alkalischen Phenolphthaleinlösung zeigt. Die Menge des locker gebundenen O wurde dadurch annähernd bestimmt, daß aus einer flüssigen Kultur die Luft mit H ausgetrieben wurde, worauf das Kulturfläschchen zugeschmolzen und einige Zeit auf 100° erhitzt wurde. Das Gasgemisch in dem kleinen Luftraum enthielt bei O fixierenden Bakterien bis 30 Proz. O. Aus 1 g B. brunneum wurden 0,1—0,45 ccm gewonnen. Dabei blieb noch die beim Durchleiten des H. verlorene Menge O unberücksichtigt.

Einige farbige Bakterien ergaben negative Resultate, z. B. Bacterium cyanogenes, pyocyaneus, Micrococcus prodigiosus, Spirillum rubrum. Ebenso waren einige chlorophyllführende Formen im Dunkeln indifferent. Sind farbige Bakterien wirksam, so ist aber die Fixation des Sauerstoffs an den Farbstoff gebunden. B. brunneum, unter bestimmten Bedingungen farblos erhalten, fixierte nicht. Daß analoge Verhältnisse wie beim Hämoglobin obwalten, wird auch dadurch gezeigt, daß diese Bakterien noch dann O binden, wenn sie durch mehrtägigen Aufenthalt in Aetherdampf gänzlich getötet sind. Auch bindet das kalt bereitete alkoholische Extrakt O in merklicher Weise. Demnach ist Hoffnung vorhanden, diesen wirksamen Körper chemisch isolieren zu können, und derselbe dürfte vielleicht sogar noch energischer O fixieren als Hämoglobin. Wahrscheinlich handelt es sich wie beim Hämoglobin um eine lockere und dissoziierende chemische Bindung des Sauerstoffes. Sicherstellung aber, ob es sich um eine solche oder um Absorption handelt, ist derzeit experimentell nicht gegeben, weil Bindung und Absorption eine Funktion der Partiärpressung sind.

Die geschilderten Befunde legen die Vermutung nahe, an ähnliche Möglichkeiten bei solchen Organismen zu denken, welche begrenzte Zeit hindurch anaërob zu leben vermögen. Wie die O-Speicherung erfolgt, ob in allen Fällen gleich, oder verschiedenartig, wäre eben festzustellen. Man wird an die (allerdings kaum zu generalisierende) Vorstellung Pasteur's erinnert, welcher annahm, daß die Sauerstoffatmung auch bei allem anaëroben Leben stattfinde, indem hier der Sauerstoff den in dem Gärungsprozesse abgebauten Verbindungen entstammt. Den Verf. lassen einige Erfahrungen vermuten, daß die Speicherung einer gewissen Sauerstoffreserve auch bei einzelnen höheren Pflanzen vorkommt, welche freilich in der Regel bezüglich des Sauerstoffes aus der Hand in den Mund leben.

Czapek (Prag).

Pammel, L. H. and **Combs, Rob.**, Some notes on chromogenic bacteria Centr. No. 1. (Botanical Dept. Jowa Agricult. Coll. — From Proc. Jowa. Acad. of Sc. III. p. 135—140.)

Kurze Beobachtungen über Staphylococcus pyogenes var. aureus Rosenb., var. citreus Passet, var. fluorescens Tred., Streptococcus cinnabareus Flügge, Sarcina lutea Schröter, S. aurantiaca Flügge, Bacillus fluorescens

liquefaciens Flügge, B. pyocyaneus Gessard, B. prodigiosus Ehrenberg, Micrococcus cyanogenus n. sp. Sämtliche, mit Ausnahme des Citreus-Eiter-Coccus, wurden in Ames gefunden. Sarcina lutea, Bacillus fluor. liquef., Strept. pyog. aureus kommen häufig vor. B. prodigiosus ist höchstwahrscheinlich nicht einheimisch. (Seitdem wurde er unzweifelhaft einheimisch hier gefunden. L. H. P.)

Micrococcus cyanogenus Pammel und Combs stammte aus einer Kultur des B. aromaticus in Milch. Milch nimmt innerhalb 3 oder 4 Tagen eine blaue Färbung an. Es ist ein kleiner aërobischer Coccus, welcher Gelatine verflüssigt, auf Agar weiß erscheint, mit spärlicher blauer Färbung, auf Gelatine weiß, trichterförmig und sie verflüssigt. In Milch ist die Färbung blau, verschwindet später und koaguliert. In 25 Tagen wurde die koagulierte Milch in Flüssigkeit gebracht. In Dunham's Pepton wurde keine Farbe hervorgerufen.

L. H. Pammel (Jowa, Agricultural College, Amer.)

Effront, Jean, Etude sur le levain lactique. (Annales de l'Institut Pasteur. T. X. 1896. p. 524 ff.)

In der Brennereitechnik überläßt man die zu vergärende Maische vor dem Hefezusatz erst einer Milchsäuregärung, die bisher einfach eingeleitet wurde, indem man die Maische längere Zeit bei 50° C hielt. Bei dieser Temperatur werden die Buttersäurebakterien unterdrückt, und nur diejenigen dem Rohmaterial anhaftenden Arten von Milchsäurebakterien werden gefördert, welche bei 50° C das Optimum ihres Wachstums und ihrer Thätigkeit besitzen. Nach den Untersuchungen Kayser's sind das gerade solche, welche die reinste Milchsäuregärung verursachen und ein Minimum an den für Hefe giftigeren flüchtigen Säuren erzeugen.

Verschiedene Theorieen haben sich bemüht, ein Verständnis der empirisch gefundenen Thatsache anzubahnen, daß eine anfängliche Milchsäuregärung im Brennereiprozeß die Ausbeute steigert. Die eine, ältere, nahm an, daß die gebildete Milchsäure in Verbindung mit den peptischen Enzymen des Malzes die Eiweißstoffe des letzteren vollständiger in Lösung bringe und dadurch die Maische reicher an für die Hefe assimilierbarem Stickstoff mache. Die Hefe werde also in gesäuerter Maische besser ernährt und sei infolgedessen auch gärkräftiger. Diese Theorie ist allgemein verlassen, nachdem sich gezeigt hat, daß die inne zu haltenden Bedingungen für eine hohe Ausbeute keineswegs identisch sind mit den Verhältnissen, unter denen die Peptonisierung der Eiweißstoffe am weitesten geht.

Heute erfreut sich eine andere Theorie der allgemeinen Beistimmung, nach der die Milchsäuregärung nur in Ermangelung eines Besseren als das weniger schlimme Uebel gewählt und sogar gefördert wird. In den Rohmaterialien des Brennereigewerbes walten die Buttersäurebakterien vor, die bei niederer Temperatur in der Maische auswachsen und die für Hefe sehr giftigen Produkte der Buttersäuregärung erzeugen würden. Bei 50° C ist ihre Entwickelung gehemmt; es tritt eine Milchsäuregärung ein, deren Produkt, die Milchsäure, nicht

nur die spätere Entwickelung von Buttersäureorganismen verhindert, sondern auch die Lebensthätigkeit der Hefe weit weniger beeinträchtigt, als die flüchtige Buttersäure.

Verf. tritt auch dieser Theorie entgegen auf Grund seiner Experimente, welche zeigten, daß bei fortgesetzter Kultur von (Rein-)Hefe in milchsäurehaltigen Würzen oder neben Milchsäurebakterien die Reproduktionsfähigkeit der Hefe herabgesetzt, ihre Gärungsenergie dagegen gesteigert wird. Nach Verf. erklären sich die guten Resultate der Praxis mit gesäuerter Maische also durch eine ähnliche Wirkung der Milchsäure auf die Hefe, wie sie die Fluorverbindungen haben. Uebrigens steht die vom Verf. nachgewiesene Förderung der Gärenergie durch Kultur in Milchsäurelösung durchaus nicht notwendig in Widerspruch mit der bisher allgemein angenommenen Ansicht von der antiseptischen Wirkung der Milchsäure im Brennereiprozeß und kann ungezwungen mit dieser vereinigt werden.

Behrens (Karlsruhe).

Petersen und **Oetken, Friedrich,** Untersuchungen über die Zusammensetzung der Schweinemilch, speziell über den Fettgehalt derselben. (Milchzeitung. Jahrg. XXV. 1896. No. 42. p. 665—667.)

Die Schwierigkeit, von Schweinen Milch in zu einwandfreien Untersuchungen genügender Menge zu gewinnen, ist sehr groß. Trotzdem Verff. sich an über 100 Landwirte des In- und Auslandes wandten, erhielten sie nur 17 brauchbare Proben. Wo das Material, mit dem man sehr haushalten mußte, ausreichte, geschah die Fettbestimmung doppelt.

Nach dem erlangten Resultat ist der Fettgehalt der Schweinemilch ein viel höherer, als in weiten und zum Teil maßgebenden Kreisen bisher angenommen wurde.

Bei der in Oldenburg untersuchten Milchprobe ergab sich für den durchschnittlichen Fettgehalt 7,56 Proz.; bei vier außerhalb Oldenburgs untersuchten Proben 8,06 Proz.

Im Gegensatz dazu ist der Durchschnitts-Fettgehalt der Kuhmilch für Nordwestdeutschland auf wenig höher als 3 Proz. anzuschlagen.

Aller Wahrscheinlichkeit nach ist der Einfluß der nach dem Werfen verstrichenen Zeit, wie des Alters der Sau nicht sehr groß und nicht in allen Fällen nach einem festen Gesetz geregelt.

Eine Nachschrift bringt Mitteilung von Milchproben bei Schweinen aus der Pfalz, wonach dort nur 2,95—5,55 Proz. Fettgehalt gefunden wurde. Immerhin ist aber selbst dieses Resultat noch hoch genug, um eine volle Bestätigung der Annahme zu liefern, daß nicht die Kuhmilch fetter ist als Schweinemilch, sondern daß gerade das umgekehrte Verhältnis obwaltet.

E. Roth (Halle a. S.).

Sartori, Versuche mit Ansäuerung von Rahm mittels Reinkulturen. (Milchzeitung. 1896. No. 43. Nach einem Bericht an den ital. Landwirtschaftsminister.)

Bei den Versuchen ist der Rahm erst pasteurisiert und dann

nach sofortiger Abkühlung die Reinkultur zugesetzt worden. Ueber die Ansäuerung zwecks Herstellung des richtigen Reifegrades äußert sich Verf. folgendermaßen: „Um den Reifegrad des Rahms zu prüfen, bedienen sich die praktischen Dänen ihres seit langer Zeit an ein derartiges Abschmecken gewöhnten Daumens. Da es nun uns in der Praxis an hinreichenden wissenschaftlichen Daten mangelt, so haben wir in den ersten Tagen auf gut Glück gehandelt, uns nach den Ergebnissen des vorigen Tages gerichtet und dem Umstande Rechnung getragen, daß die Faktoren der Säuerung die Temperaturen und die Mengen des Ferments sind. So habe ich, bald den einen, bald den anderen dieser Koëffizienten ändernd, nach vielen Versuchen festzustellen vermocht, daß der geeigneteste Säuerungsgrad des Rahmes 26 bis 28 ccm $^1/_4$ Normallauge für 100 ccm oder etwa 0,630 Proz. Milchsäure entspricht. Nach meinen Beobachtungen ist ein etwas höherer Säuregrad (28—30 ccm NaHO $^1/_4$ n) für Butter, die sich lange Zeit halten soll, die für den Export bestimmt ist, günstig, ein geringerer Grad (25—27 ccm) bewirkt mehr Aroma und eignet sich besonders für Butter, die zum sofortigen Konsum bestimmt ist. Jedenfalls muß der Rahm, sobald er den gewünschten Säuregrad erreicht hat, sofort gebuttert werden. Andernfalls müßte er, um die weitere Arbeit der Fermente zu verhütten, gekühlt werden.“ Nach der Ansicht des Verf.'s ist es unmöglich, ein Urteil über die Qualität des Aromas der Butter aus fermentierten Rahm abzugeben; sie zeichnet sich hauptsächlich durch die Gleichmäßigkeit ihres Geschmackes aus. Sauerrahmbutter ist in Brescia sehr gesucht und unter dem Namen „Butter der Schule“ bekannt.

Die Haltbarkeit dieser mit durch Ferment gesäuertem Rahm hergestellte Butter ist viel größer als bei der Verwendung gewöhnlichen Rahms.

Diese Haltbarkeit der Butter ist besonders bedeutend, wenn der Rahm vor dem Ansäuern pasteurisiert wird oder am besten, wenn man den centrifugierten Rahm auf den geeigneten Temperaturgrad sofort abkühlt. Die Säuerung des Rahms geht weder gleichmäßig noch regelmäßig vor sich, wenn er sehr dick ist; in diesem Falle ist es angezeigt, dem Rahm gelegentlich der Pasteurisierung die geeignete vorher gekochte Menge Wassers beizufügen.

Verf. hat außerdem auch noch Versuche angestellt, die Milchsäurereinkulturen bei der Bereitung von Butter aus Schafmilch anzuwenden. Diese ersten Versuche haben vorläufig noch wenig Positives ergeben; dem Säuregrad des Rahms sei dabei besondere Aufmerksamkeit zu schenken. Baier (Berlin).

Martiny, B., Herbstliche Butterfehler. (Molkereizeitung. 1886. No. 43.)

Verf. bespricht die namentlich im Herbste in höherem Grade auftretenden Butterfehler, die durch die Futtermittel, wie auch durch Gärungserreger (Bakterien etc.) hervorgerufen werden. Letztere gelangen meist von außen her, hauptsächlich aus dem Kot der Tiere und aus der Streu in die Milch. Unaufgeklärt ist indessen, daß diese Gärungserreger meist nur im Herbst sich besonders fühlbar machen.

Verf. nimmt an, „daß einerseits die kühlere und verhältnismäßig feuchtere Luft, das längere Verbleiben des Taues auf den Futterpflanzen, absterbende Teile nicht nur der von den Tieren genossenen, sondern auch anderer Gewächse, z. B. die Stoppeln, das gefallene Laub der Bäume u. dergl. der Entwickelung und Ausbreitung jener Gärungserreger besonders günstig seien, während andererseits vielleicht eine aus falscher Sparsamkeit oder aus mangelndem Verständnis um zuträglich eingerichtete Ernährung der Kühe deren allgemeines Wohlbefinden in einer Weise störe, daß die von ihnen erzeugte Milch mehr als sonst geeignet sei, dem schädlichen Einflusse der Gärungserreger anheim zu fallen.“

Verf. empfiehlt, um den Butterfehlern vorzubeugen, einerseits passendes gemischtes Futter, andererseits äußerste Sauberkeit in der Kuhhaltung wie in der Behandlung der Milch. Die Sorglosigkeit darin scheine noch ganz besonders neuerdings verstärkt zu sein durch das Erhitzen der Milch und den nachfolgenden Zusatz von Reinkultur zur Rahmsäuerung. Wenn auch die Hitze die Gärungs- und Krankheitserreger in der Milch abtöte, so bleiben doch die Veränderungen, die durch dieselben bewirkt werden, jedoch sei diejenige Milchhefe noch nicht gefunden, „die gleichen Wohlgeschmack der Butter zu verleihen vermag wie derjenige ist, der bei angemessener Fütterung, bei sauberer Milchgewinnung und bei Frischerhaltung der Milch sich von selbst ergiebt.“

Baier (Berlin).

Hillmann, Paul, Beiträge zur Kenntnis des Einflusses des Labfermentes auf die Eiweißstoffe der Milch und zur Bewertung der Milch für Käsereizwecke. [Inaug.-Diss.] 8⁰. 76 p. Leipzig 1895.

Die wichtigsten Forschungsergebnisse auf dem Gebiete der Gerinnung der Eiweißstoffe der Kuhmilch durch das Labferment leiten die Arbeit ein. Die Ausführung der einzelnen Untersuchungen reicht von p. 14 bis 25, während sich von p. 62 bis zum Schluß Tabellen anschließen. Der zweite Teil bespricht das Verhältnis der Menge des Kaseïns zu derjenigen des Parakaseïns in der Kuhmilch.

Nach den Ausführungen des Verf.'s sind Gerinnungszeit der Milch und Parakaseïnausbeute unabhängig voneinander, trotzdem ist mit kurzer Gerinnungszeit auch meistens eine hohe Parakaseïnausbeute verbunden.

Diese letztere ist von dem absoluten Gehalte der Milch an löslichen Kalksalzen abhängig, der mit hohem Kalkgehalt der Milch, wie der Milchasche und mit hohem Säuregrad Hand in Hand zu gehen pflegt. Stärkere Verdünnungen der Milch mit Wasser wirken daher vermindernd und Zusätze von löslichen Kalksalzen vermehrend auf die Parakaseïnausbeute.

Die Wirkung des Labes besteht nicht allein in einer Spaltung des Kaseïns, sondern auch die löslichen Eiweißstoffe der Milch werden in einen schwerer ausfällbaren, also gewissermaßen noch leichter löslichen Zustand versetzt. Unter besonders günstigen Umständen kann wahrscheinlich auch aus dem Albumin Parakaseïn gebildet werden.

Der Nutzen des Labes für die Ernährung des Säuglings ist also ein doppelter; er besteht erstens in der leichteren Löslichkeit eines Teils der Eiweißstoffe der Milch, zweitens darin, daß ein Teil derselben für die Darmverdauung aufgespart, also die resorbierende Fläche vergrößert wird. Peters ist es sogar gelungen, die Labgerinnung und Spaltung bei verschiedenen Eiweißstoffen tierischen und pflanzlichen Ursprungs zu bewirken, so bei Alkalialbuminaten aus Hühnereiweiß, Weizen-, Roggen- und Erbsenmehl bei Gegenwart von löslichen Kalksalzen.

Der große Wert der löslichen Kalksalze für die Gerinnung der Milch ist für die Praxis wichtig. In der Milch frischmelkender Kühe pflegen diese Salze meist in ausreichender Menge vorhanden zu sein, dagegen nicht in der altmelkender, trotzdem deren Milch oft besonders eiweißreich ist. Oft mag auch die Fütterung von Einfluß sein.

Für die Technik der Käserei wäre eine Steigerung durch Fütterung unzweckmäßig; man müßte, um sich die höhere relative Ausbeute zu Nutze zu machen, direkt Kalksalze vor dem Käsen der Milch zusetzen. Durch Zusatz von löslichen Kalksalzen würde die Gerinnung sehr beschleunigt werden, was für die meisten Käsesorten wegen der damit veränderten Beschaffenheit des Gerinnsels wohl nicht erwünscht wäre. Eher könnte man dieses durch niedrigere Temperaturen und geringere Labzusätze ausgleichen. Jedenfalls sind noch eingehendere Versuche in dieser Hinsicht anzustellen.

Verf. beabsichtigt in einer größeren Käserei Versuche mit Kalksalzen anzustellen und so die Laboratoriumbeobachtungen in die Praxis zu übertragen. E. Roth (Halle a. S.).

Yabe, K., Käse aus Sojabohnen. (Nederl. Landb. Weekbl. 1896. No. 82 — aus Molkereizeitung. 1896. No. 43.)

Die Japaner bereiten aus den an Legumin reichen Sojabohnen zwei Arten Käse, Miso und Natto genannt. Dem Miso wird in Gärung versetzter Reis zugefügt, der Natto wird 5 Stunden lang in einer Kochsalzlösung gekocht, dann in Stroh gewickelt und damit einige Tage lang in einem warmen Raume gehalten. Aus dem Natto gelang es, drei verschiedene Mikrokokken und einen Bacillus (ähnlich dem Bacillus fluor. liquefaciens) zu isolieren. Wahrscheinlich führt das Stroh dem Nattokäse die Mikroben zu, die ihm sein faseriges Gefüge und eigentümlichen Geruch verleihen. Baier (Berlin).

Pammel, L. H. and **Cowes, Geo.**, Fungous diseases of plants at Ames, Jowa 1895. Centr. No. 1. (Botanical Dept. Jowa Agricult. Coll. From Proc. Jowa Acad. of sc. III. p. 140—148.)

Dieser Bericht bildet die Fortsetzung früherer Mitteilungen, 1891, 1892, 1893, 1894, und zeigt, daß meteorologische Faktoren einen großen Einfluß auf parasitische Pilze ausüben. Der Bericht enthält meteorologische Beobachtungen im Mai, Juni, Juli, August und September. Die Uredineae waren nicht so häufig als 1895. Puccinia graminis, P. rubigo-vera, P. coronata waren nicht schädlich im Juni und Juli, jedoch sehr häufig im August und September. Cystopus candidus wurde in großer Zahl auf Lepidium inter-

medium und anderen Cruciferae, im Frühjahr Plasmopara viticola häufig gefunden. Unter den Mehltaupilzen waren Podosphaera oxyacanthae, Sphaerotheca mali, Uncinula necator, Erysiphe cichoracearum häufig. Bacillus amylovorus kam häufig in Baumschulen vor.

L. H. Pammel (Jowa, Agricultural College, Amer.)

Roze, E., Sur des Bactériacées de la pomme de terre. (Bull. de la Soc. mycol. de France. 1896. p. 55.)

Der Verf. lenkt die Aufmerksamkeit auf den Pilz des Kartoffelgrindes, Oospora scabies, und beschreibt zwei neue Arten von Micrococcus, die bestimmte Kartoffelkrankheiten verursachen sollen. Der erste dieser beiden, dem er den Namen Micrococcus nuclei beilegt, soll die Kartoffel angreifen, indem er kleine, korkige Flecken von ungefähr 0,5 cm im Durchmesser bildet. Diese sind erst blaßbraun und werden mit der Zeit dunkler. Man fand, daß die Zellkerne der braunen Zellen ihr Aussehen änderten, während die in den anscheinend gesunden Nachbarzellen unverändert blieben. Auf diese Thatsache gründet sich der Name des Organismus.

Der zweite Organismus wurde auf Richter's Imperatorkartoffel gefunden, auf der sie im Parenchym unregelmäßige Flecke von 1—2 cm im Durchmesser bildet, grau von Farbe, mit einer dunkleren Außenlinie. Unter einer Glasglocke scheiden die Flecke Tropfen von weißlicher Farbe aus, die durch Zusammenfließen die Oberfläche der Kartoffel bedecken. Die Tropfen wimmeln von Bakterien, die den Namen Micrococcus imperatoris erhalten haben. Der Organismus ist ungefärbt, oval-elliptisch und 1—2 μ groß. Später werden die grauen Flecke in der Kartoffel resorbiert und hinterlassen Höhlungen. Es wurden mit den Kulturen mit Erfolg Impfungen vorgenommen, d. h. Erfolge wurden erzielt, wenn die geimpften Knollen nachher in feuchte Erde eingelegt wurden. Bis jetzt ist diese Krankheit nur auf der genannten Kartoffelvarietät (Richter's Imperator) gefunden worden. W. Windisch (Berlin).

Potter, M. C., Rottenness of turnips and swedes in store. (Reprinted from the Journal of the Board of Agriculture. Vol. III. No. 2.)

Verf. untersuchte die Fäule der Rüben in den Mieten und kommt zu dem Resultate, daß dieselbe, wenigstens zum Teil und in besonders starker Verbreitung hervorgebracht wird durch eine Form von Botrytis, von der nur Mycel, Konidien und Sklerotien beobachtet wurden. Infektionsversuche zeigten, daß der Pilz sowohl als Parasit wie als Saprophyt vegetieren kann. Er dringt übrigens in den Wurzelkörper der Rüben nur von Wundstellen aus ein.

Als Gegenmittel empfiehlt der Verf. möglichst baldiges Verbrennen aller mit Sklerotien besetzten pflanzlichen Abfälle auf dem Felde. Bessere Erfolge als diese Sisyphusarbeit dürfte bei der bekannten allgemeinen Verbreitung des Pilzes sorgfältige Lüftung und Drainage der Mieten gegen das Faulen haben.

Bezüglich anderer beim Faulen der Rüben beteiligter Fadenpilze und Bakterien ist Verf. noch mit Untersuchungen beschäftigt.

Behrens (Karlsruhe).

Injurious fungi and insects. (Journ. [British] Board Agr. 1896. No. 4. p. 434—441. With 5 figs.)

Die Abhandlung enthält Mitteilungen über den Rübenmehltau (Oïdium balsamii), eine Kartoffelkrankheit (Rhizoctonia violaceae, über Waschwässer für Obstbäume und den Feuerbrand des Hopfens.

Der Rübenmehltau war hauptsächlich während des Sommers 1895 vorherrschend; es werden mehrere andere Pflanzen namhaft gemacht, die ebenfalls für das Oïdium balsamii zugänglich sind. Der Pilz wird beschrieben und Methoden zu seiner Bekämpfung werden angegeben. Rasch wachsende Pflanzen werden nicht so leicht angegriffen als am Wachstum behinderte oder dürre. Ackersenf und andere Unkräuter, auf denen der Pilz gedeiht, sollten ausgerottet werden, die Rüben sollen mit einer ziemlich starken Bordeauxbrühe besprengt werden. Gurken, die auch angegriffen werden, sollen mit Bordeauxbrühe besprengt werden, die 5 kg Kupfersulfat in 100 Gallonen Wasser enthält, wobei dafür Sorge zu tragen ist, daß die Sprengflüssigkeit nicht mit den Blüten und Früchten in Berührung kommt.

Von der Kartoffelkrankheit, die durch Rhizoctonia violaceae verursacht wird, giebt der Verf. Abbildungen. Diese Krankheit trat in Surrey und Kent bei lagernden Kartoffeln auf. Am ersten sieht man sie beim Durchschneiden der Knolle, wobei sie sich als eine dunkle Linie zeigt, die sich um die Kartoffel gerade unter der Haut herzieht. Die Krankheit kann bei gelagerten Kartoffeln um sich greifen; bei ihrem Auftreten sind alle infizierten Knollen auszulesen und zu vernichten. Sorge muß man tragen, daß keine infizierte Knolle zur Aussaat gelangt.

Von den Waschflüssigkeiten, die zum Waschen der Bäume zum Schutz gegen Insekten empfohlen werden, enthält die eine Arsenverbindungen, andere sind Kerosin-Emulsionen, kaustische Soda- oder Pottaschelösungen.

Zum Schluß werden noch mehrere Hopfenkrankheiten unter dem Namen „Feuerbrand" zusammengefaßt. Die Blätter der Pflanze werden bronzefarbig, später dunkelbraun fleckig und fallen dann ab. Die Krankheit hat Aehnlichkeit mit der von der roten Spinne verursachten; diese wurde jedoch nicht gefunden. Mindestens eine Form der Krankheit wird verursacht durch Heterosporium minutulum, doch war in vielen Fällen, zumal bei schweren Erkrankungen, weder eine Insekten- noch eine Pilzpest nachzuweisen. Hier scheint eine Beziehung der Krankheit zum Erdboden zu bestehen. Anwendung von Schwefel, Kultivierung, Düngung hatten keine Einwirkung auf die Krankheit. Schwere Regenschauer im August schienen sie zum Stillstande zu bringen.

W. Windisch (Berlin).

Stoklasa, J., Heterodera radicicola. (Zeitschr. für Zuckerindustrie in Böhmen. Bd. XXI. 1896. p. 92.)

Verf. fand nicht nur auf den Haupt-, sondern auch auf den Nebenwurzeln einer Zuckerrübe eine große Menge großer und kleiner Knöllchen, welche sich bei der makroskopischen Untersuchung als Weibchen der Heterodera radicicola erwiesen. Die weiteren Untersuchungen haben ergeben, daß sich diese Nematodenart von der Rübennematode (H. Schachtii) gar nicht unterscheidet. Die Larven dringen zuerst in die Wurzel ein, wo die geschlechtliche Trennung stattfindet. Infolge des Reizes des Zellengewebes wird ein schnelles Wachsen der Zellen bewirkt, wobei sich Knöllchen bilden, welche nach außen anschwellen und weiter wachsen, bis sie eine gewisse Größe erreichen. In den Knöllchen findet die Entwickelung des Weibchens und des Männchens, sowie der Befruchtungsakt statt. Durch das Absterben des Weibchens und weitere Entwickelung der Jungen erweitern sich die Wurelzknöllchen immer mehr, denn die Larven dringen nach dem Verlassen des Mutterkörpers und der Eier nicht immer in den Boden, sondern leben in den Intercellularräumen oder in den Gefäßbündeln weiter und bilden in der Nähe neue Knöllchen. Nach den Untersuchungen des Verf.'s ist H. radicicola in der Lage, die vitalen Lebensprozesse im Organismus der Zuckerrübe zu stören und zeigen auch thatsächlich die mit Knöllchen behafteten Rüben eine schwächere Entwickelung nicht nur der Wurzel, sondern auch des Blattwerkes. Hervorgehoben soll noch werden, daß H. radicicola die Wurzelknöllchen namentlich im sandigen Boden mit ungewöhnlicher Energie treibt, dagegen aber, wie es den Anschein hat, im Thonboden abstirbt. Stift (Wien).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Hamburger, J., Die Gefrierpunktsbestimmung der Milch als Mittel zur Entdeckung und quantitativen Bestimmung von Wasserzusatz. (Molkerei-Zeitung. 1896. No. 23. p. 273—274.)

Die Gefrierpunkterniedrigung der Milch verschiedener Tiere zeigt eine ziemlich konstante Größe. Bedenkt man, daß die Erniedrigung um 0,56° C schwankt, so folgt daraus, daß eine Beischmischung von $\frac{0{,}005}{0{,}58} \times 100 = 1{,}1$ Proz. Wasser gefunden werden kann.

Verf. fand nun, daß die mittlere Gefrierpunktserniedrigung der untersuchten Milchproben 0,561° ist. Beimischungen von 3 Proz. Wasser lassen sich mit Sicherheit entdecken.

Fraglich ist nur, ob der Mittelwert für alle Gegenden zutrifft. Nur ein ausgedehntes Versuchsmaterial vermag diese Frage zu entscheiden.

Die Ausführung der Versuche erfordert geringen Zeitaufwand. Hat man, wie in den Städten und Molkereien ja stets, Eis zur Ver-

fügung, so kann man in einer Stunde mehrere verdächtige Milchproben untersuchen, das zugesetzte Wasser kann sogar quantitativ bestimmt werden. E. Roth (Halle a. S.).

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien etc.

A., Ueber Reinigung von Milch und ein neues Kiesfilter. Molkereizeitung. No. 43.)

Die Sterilisatorwerke in Frankfurt a. M. bringen ein neues Kiesfilter in den Handel. Der Apparat besteht aus einem mittels Zapfen in Lagern ruhenden Cylinder, welcher selbst bei voller Beschickung leicht drehbar ist. Der Cylinder ist oben und unten durch abnehmbare Deckel verschlossen und so eingerichtet, daß der Kies bei der zum Schluß erfolgenden Drehung um 180° keine Verschiebung im Innern des Apparates erleidet. Die Milch, von einem höher stehenden Bassin kommend, tritt unten ein, steigt im Kies hoch und fließt oben gereinigt aus. Sobald das Bassin leer ist, dreht man es um 180° und gewinnt so den im Cylinder stehenden Rest der Flüssigkeit, ebenfalls gut gereinigt, denn dieser fließt in der ursprünglichen Filtrierrichtung und kann also so keinen Schmutz mit sich führen, was bei den seither gebrauchten Kiesfiltern häufig der Fall war. Neben diesem sehr wichtigen Vorteil ist das Filter in seiner Handhabung sehr leicht, es ist im Schwerpunkt aufgehängt und kann selbst von einem Kind mit Leichtigkeit gedreht werden. Durch Abnahme des oberen Deckels und Drehung des ganzen Apparates findet die Entleerung desselben statt, Kanten und Ecken, in welchen sich Milchteile festsetzen könnten, sind nicht vorhanden. Baier (Berlin).

Neue Litteratur,

zusammengestellt von

Dr. Wilhelm Windisch.

Allgemeines über Bakterien und andere Mikroorganismen.

Galli-Valerio, B., Manuale di parassitologia in tavole sinotiche. 16°. 125 p. Milano 1896.

Systematik, Morphologie und Biologie der Bakterien und anderer Mikroorganismen.

Brodmeier, A., Ueber die Beziehung des Proteus vulgaris Hsr. zur ammoniakalischen Harnstoffzersetzung. [Inaug.-Diss. Erlangen.] 8°. 20 p. Hamburg 1896.

C. M. A., Conditions under which bacteria live. (Veterin. Journ. 1896. Sept. p. 168—173.)

Glage, Versuche über die Lebenszähigkeit der Finnen. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1896. No. 12. p. 231—234.)
Herla, V., Sur un nouveau bacille capsulé. (Arch. de biol. T. XIV. 1896. Fasc. 3. p. 403—429.)
Wesbrock, F., A new anaërobic putrefactive bacillus (Bacillus tachysporus). (Journ. of pathol. and bacteriol. 1896. July.)
Wilde, M., Ueber den Bacillus pneumoniae Friedländers und verwandte Bakterien. [Inaug.-Diss.] 8⁰. 74 p. Bonn 1896.

Allgemeine Gärungsphysiologie.

Bockorny, Th., Beeinflussung der Alkoholgärung des Zuckers durch verschiedene chemische Substanzen. (Allg. Brauer- u. Hopfenztg. Bd. XXXVI. 1896. p. 1573.)
Fermi, Claudio u. Pampersi, G., Peptonisieren die Mikroorganismen das Eiweiß? Bildet sich bei der Fäulnis Pepton? (Centralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskrankh. I. Abt. Bd. XX. 1896. p. 387.)
Gérard, E., Sur la fermentation de l'acide urique par les microorganismes. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1896. No. 27. p. 828—830.)
Lafar, Franz, Technische Mykologie. Ein Handbuch für die Gärungsphysiologie für technische Chemiker, Nahrungsmittelchemiker, Gärungstechniker, Agrikulturchemiker, Pharmazeuten und Landwirte. Mit einem Vorwort von E. Ch. Hansen. I. Bd. Schizomycetengärungen. Jena (G. Fischer) 1896. 9 M.
Schützenberger, P., Les fermentations. 6e éd. 8⁰. Avec 28 fig. Paris 1896. 6 fr.

Nahrungs- und Genußmittel, Konserven etc.

Blumenthal, Ferdinand, Ueber die Produkte der bakterischen Zersetzung der Milch. (Virchow's Archiv. Bd. CXLVI. 1896. Heft 1.)
Golwkow, D., Ueber das Eindringen von Cholera-Vibrionen in Hühnereier. (Wratsch. 1896. No. 7.) [Russisch.]
Seelig, Paul, Ueber den Einfluß des Milchzuckers auf die bakterielle Eiweißzersetzung. (Virchow's Archiv. Bd. CXLVI. 1896. p. 53—64.)

Wasser.

Copeman, S. M., The influence of subsoilwater on health. (Lancet. Vol. II. 1896. No. 3. p. 166—168.)
Eijkman, Jets over bacteriologisch drinkwateronderzoek. (Geneesk. Tijdschr. v. Nederl. Indië. 1896. Deel 36. aflev. 3. p. 179—207.)
Fischer, B., Untersuchungen über die Verunreinigungen des Kieler Hafens. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXVII. 1896. Heft 1. p. 1—141.)
Grether, G., Betrachtungen zur Frage der Abwasserreinigung. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXVII. 1896. Heft 3. p. 189—230.)
Lacour et **Gavin**, Les eaux de Versailles, leur qualité et leur quantité. (Annal. d'hygiène publ. T. II. 1896. No. 3. p. 255—264.)
Ohlmüller, W., Die Untersuchung des Wassers. Ein Leitfaden zum Gebrauch im Laboratorium für Aerzte, Apotheker und Studierende. 2. Aufl. gr. 8⁰. XI, 175 p. Mit 75 Abbildgn. u. 1 Lichtdr.-Taf. Berlin (Julius Springer) 1896. 5 M.
Pelc, J. u. Hueppe, F., Wasserversorgung in Prag und in den Vororten. (Oesterr. Sanitätswesen. 1896. No. 36. Beil. p. 119—165.)

Durch Parasiten verursachte Krankheiten der Pflanzen.

Ashmead, W. H., Descriptions of new parasitic Hymenoptera. (Trans. Amer. Ent. Soc. Vol. XXIII. 1896. p. 174—234.)
Caputh, L., The Larch disease. (Gard. Chron. Ser. 3, 20 [1896]. No. 500. p. 93—94.)
Chevrel, R., Notes on Pegomia hyoscyami parasitic on sugar beets. (Bul. Linn. Soc. Normandie. Ser. 4, 8. 1896. p. 331—340.)
Coste-Floret, Causes de la brunissure des feuilles. (Progr. Agr. et Vit. T. XXVI. 1896. No. 29. p. 63—67.)
Cotton blight. (Indian Textile Jour. — Indian Agr. Vol. XXI. 1896. No. 9. p. 274.)

Craig, J., The strawberry leaf roller. (Canadian Hort. Vol. XIX. 1896. No. 7. p. 240—241.)
Doering, Ueber Phoma betae. (Blätter f. Rübenbau. Bd. III. 1896. p. 286.)
Frank, B., Die Herz- und Trockenfäule der Zuckerrüben in Schlesien im Jahre 1896. (Der Landwirth. Jahrg. XXXII. 1896. No. 97. p. 577.)
— —, Maßregeln gegen den Schildkäfer der Rüben. (Mitteil. d. deutsch. Landwirtschafts-Gesellsch. Jahrg. XI. 1896. Stück 20. p. 212.)
Fuller, C., Forest insects — some gallmaking coccids. (Agl. Gaz. N. S. Wales. Vol. VII. 1896. No. 4. p. 209—218.)
Halsted, B. D., An outbreak of asparagus rust. (Garden and Forest. Vol. IX. 1896. No. 449. p. 394—395.)
Hillman, F. H., The San José scale. (Nevada Sta. Bul. 29. 1896. p. 8. With 4 figs.)
Hubbard, E. S., Die back. (Florida Farmer and Fruit Grower. Vol. VIII. 1896. No. 20. p. 467.)
Jones, L. R., Potato blight. (Garden and Forest. Vol. IX. 1896. No. 428. p. 188—189.)
Mayet, V., Another enemy of the vine — the coccus of Chile. (Agl. Jour. Cape Colony. Vol. IX. 1896. No. 7. p. 158—161.)
McCarthy, G., The peach tree and its parasites. (North Carolina Sta. Bul. 120. p. 284—308. With 22 figs.)
Ormerod, E. A., Eel worm disease in onions. (Agl. Gaz. Vol. XLIV. 1896. No. 1175. p. 9.)
Quinn, G., Some insects injurious to the apple. (Garden and Field. Vol. XXII. 1896. No. 1. p. 24—25.)
Ráthay, E., Ueber das Auftreten von Gummi in der Rebe und über die „Gommose bacillaire“. (Jahresber. u. Progr. d. k. k. önolog. u. pomolog. Lehranstalt Klosterneuburg. 1896. p. 1.)
Ripe rot of plums. (Canadian Hort. Vol. XIX. 1896. No. 7. p. 220—221. With 2 figs.)
Slingerland, M. V., Climbing cutworms. (New York Cornell Sta. Bul. 104. p. 553—600. With 5 pl. and 2 figs.)
Swingle, W. T. and Webber, H. J., The principle diseases of citrus fruits in Florida. (U. S. Dept. Agr., Division of Vegetable Physiology and Pathology. Bul. 8. 1896. p. 42. With 8 pl. and 6 figs.)
Stocklasa, Zuckerrübenkrankheiten in Böhmen. (Böhm. Zeitschr. f. Zuckerindustrie. Bd. XXI. 1896. p. 1.)
The oak pruner. (Garden and Forest. Vol. IX. 1896. No. 439. p. 297.)
Tryon, H., Proceedings in coping with the grub pest. (Sugar Journ. and Trop. Cult. Vol. V. 1896. No. 4. p. 91—93.)
Washburn, F. L., Fruit pests. (Oregon Sta. Bul. 38. p. 27. With 14 figs.)
Watt, G., White ants as tea pests. (Indian Agr. Vol. XXI. 1896. No. 6. p. 177—180.)
Webster, F. M., The grape root worm. (Ohio Sta. Bul. 62. 1896. p. 77—95. With 1 pl.)

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Böhm, A. u. Oppel, A., Taschenbuch der mikroskopischen Technik. 3. Aufl. 8⁰. VI, 224 p. München (R. Oldenbourg) 1896. 3 M.
Grimbert, L., Sur un milieu d'Elsner artificiel. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1896. No. 27. p. 815—817.)
Pakes, W., An apparatus for counting colonies. (Journ. of the pathol. and bacteriol. 1896. July.)
Rissling, Nachweis von Finnen in gehacktem Fleisch und in Wurst. (Zeitschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene. 1896. Heft 4.)
Solles, E., Technique bactériologique nouvelle. (Journ. de méd. de Bordeaux. 1896. 21. juin.)
Zimmermann-Buscaglione, Il microscopio; guida alla microscopia scientifica. 8⁰. 480 p. Con fig. Torino 1896. 8 £.

Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien.

Garman, H., Experiments for checking apple rot and codling moth in 1895. (Kentucky Sta. Bul. 59. p. 113—129. With 4 pl.)

Hedrick, U. P. and **Cordley**, A. B., Spraying. (Oregon Sta. Bul. Vol. XLI. 1896. p. 95—108.)

Kenwood, H., The disinfection of rooms by sulphurous acid gas. (Brit. med. Journ. 1896. No. 1860. p. 439—441.)

Lévai, J., Ueber Sterilisation der Metallinstrumente. (Wien. klin. Rundschau. 1896. No. 31. p. 529—531.)

Price, R. H., Saving corn from the bollworm. (Amer. Gard. Vol. XVII. 1896. No. 83. p. 468. With 1 fig.)

Rosenberg, P., Ueber Wirkungen des Formaldehyds in bisher nicht bekannten Lösungen. Vorl. Mitteil. (Dtsche med. Wchschr. 1896. No. 39. p. 626—627.)

Schattenfroh, A., Ueber die Wirkung der stickstoffwasserstoffsauren Salze auf pflanzliche Mikroorganismen. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXVII. 1896. Heft 3. p. 231—233.)

— —, Ueber die Beziehungen der Phagocytose zur Alexinwirkung bei Sproßpilzen und Bakterien. (Loc. cit. p. 234—248.)

Smith, J. B., „Raupenleim" and „Dendrolene". (Ent. News. Vol. VII. 1896. No. 6. p. 177.)

Zehntner, J., Life history and treatment of the sugar cane borer. (Med. Proef. Sta. East Java. 1896. No. 23. N. ser. p. 21. With 2 pl.)

Inhalt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

1896. Centralblatt Bd. II. No 23|24.

für Bakteriologie und Parasitenkunde.

II. Abteilung.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten.

Zweite Abteilung:

Allgemeine, landwirtschaftlich-technologische Bakteriologie, Gärungsphysiologie und Pflanzenpathologie.

In Verbindung mit

Prof. Dr. **Adametz** in Krakau, Prof. Dr M. W. **Beyerinck** in Delft, Prof. Dr. **A. B. Frank** in Berlin, Dr. **v. Freudenreich** in Bern, Prof. Dr. **Emil Chr. Hansen** in Kopenhagen, Dr. **Lindner** in Berlin, Prof. Dr. **Müller-Thurgau** in Wädensweil, Dr. **Erwin F. Smith** in Washington, D. C., U. S. A., Prof. Dr. **Stutzer** in Bonn, Privatdocent Dr. **Wehmer** in Hannover, Dr. **Weigmann** in Kiel, **Dr. Wilfarth** in Bernburg und Dr. **Winogradsky** in St. Petersburg

herausgegeben von

Dr. O. Uhlworm in Cassel.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

II. Band. Jena, den 31. Dezember 1896. **No. 25/26.**

Jährlich erscheinen 26 Nummern. Preis für den Band (Jahrgang) 16 Mark.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, ***etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.***

Original-Mittheilungen.

Ueber die freiwillige Säuerung der Milch.

[Aus dem milchwirtschaftlich-chemischen Laboratorium des Landwirtschaftl. Instituts der Universität Göttingen.]

Von

Dr. **G. Leichmann.**

Ueber diesen Gegenstand teilte ich in der Milchzeitung (Jahrg. 1894. No. 33 und 1896. No. 5) bakteriologische Untersuchungen mit, aus denen hervorging, daß bei dem freiwilligen Säuerungsprozeß der Milch stets und überall eine und dieselbe Bakterienart vorwiegend

beteiligt sei. Auch Günther und Thierfelder[1]) fanden in zahlreichen Proben spontan geronnener Milch konstant nur einen bestimmten milchsäurebildenden Mikroorganismus, der, wie ich zeigte, mit dem von mir schon früher beschriebenen identisch ist. Desgleichen hat Weigmann[2]) meine Angaben im wesentlichen bestätigen können.

Ich wies ferner nach, daß diese Form sowohl von Hueppe's Bacillus acidi lactici wie von allen anderen bisher aus Milch isolierten Arten spezifisch verschieden sei, und glaube sie daher mit einem besonderen Namen als Bacterium lactis acidi, gemäß ihrer Bedeutung für den spontanen Gerinnungsprozeß der Milch, bezeichnen zu dürfen.

Wenn nun die bakteriologischen Forschungen der letzten Jahre die hier vertretene Anschauung, welche dem Bacterium lactis acidi bei der freiwilligen Säuerung der Milch die Hauptrolle zuweist, übereinstimmend rechtfertigen, so stehen die Ergebnisse der chemischen Untersuchungen auf diesem Gebiete nicht ganz damit im Einklang. Wie Günther und Thierfelder zuerst feststellten und wie ich bestätigen konnte, bildet Bacterium lactis acidi, wenn es in sterilisierter Milch rein kultiviert wird, stets die optisch aktive, rechtsdrehende Modifikation der Aethylidenmilchsäure. Demgemäß hätte man nun erwarten sollen, daß sich auch in spontan geronnener Milch die rechtsdrehende Milchsäure immer oder doch vorwiegend würde nachweisen lassen.

Indessen fanden Günther und Thierfelder bei ihren diesbezüglichen eingehenden Untersuchungen nur in wenigen Proben saurer Milch die Rechtsmilchsäure ausschließlich, in anderen eine Mischung von inaktiver und Rechtsmilchsäure und in vielen lediglich die inaktive Säure vor. Dieser Befund mußte um so mehr befremden, als die gleichzeitig vorgenommene bakteriologische Analyse in eben jenen Proben, auch in denjenigen, welche die inaktive Säure allein enthielten, immer nur das Rechtsmilchsäure bildende Bakterium ergeben hatte.

Eine Lösung des hierin liegenden Widerspruches schien mir von vornherein nur denkbar, wenn es gelänge, eine bisher übersehene, neben Bacterium lactis acidi in säuernder Milch wirksame und zwar eine Linksmilchsäure erzeugende Bakterienart aufzufinden; denn es ist bekannt, daß durch Mischung von Rechts- und Linksmilchsäure die inaktive Säure gebildet wird. Einen dem hier vermuteten analogen Vorgang hatte ich bereits bei der in höherer Temperatur, zwischen 44 und 52 ° C, stattfindenden spontanen Milchgerinnung zu beobachten Gelegenheit gehabt. Hierbei sind nämlich, wie ich in der Milchzeitung (Jahrg. 1896. p. 65) mitteilte, häufig zwei, untereinander und von Bact. lactis acidi verschiedene Mikroorganismen gleichzeitig beteiligt, Micrococcus lactis acidi und Bacillus lactis acidi,[3]) durch deren Zusammenwirken, indem der erste für

1) Arch. f. Hygiene. Bd. XXV. 1895. Heft 2.

2) Milchzeitung. 1896. No. 10 und 11.

3) Gegenüber einer Anmerkung zu meinem Aufsatze: „Die Benennung der Milchsäurebakterien" in No. 38 des Jahrg. 1896 der Zeitschrift f. Spiritusindustrie betone ich, daß diese Bezeichnung für andere Arten noch nicht angewandt wurde. Hueppe's Bacillus wird als Bacillus acidi lactici (=Milchsäurebacillus), die oben genannte Art aber als Bacillus lactis acidi (= Bacillus der saueren Milch) bezeichnet.

sich die Rechtsmilchsäure, der andere die Linksmilchsäure bildet, offenbar inaktive Säure entstehen muß. Der bakteriologische Nachweis dieser beiden Arten in gesäuerter Milch bietet keinerlei Schwierigkeiten, da sie schon im mikroskopischen Präparate durch ihre charakteristischen Wuchsformen deutlich genug nebeneinander hervortreten und bei der Kultur auf Agarplatten durchaus verschieden gestaltete Kolonieen zur Entwickelung bringen.

So einfach und klar liegen jedoch die Verhältnisse bei der unter gewöhnlichen Umständen eintretenden spontanen Säuerung nicht[1]). Untersucht man eine bei gewöhnlicher Wärme geronnene Milch mit Hilfe der Gelatineplattenkulturen, so erscheint hier bis auf zufällige, ganz vereinzelte Ausnahmen immer nur eine Form säurebildender Kolonieen. Auch die von diesen Kolonieen abgeimpften Stichkulturen in Molkegelatine zeigen stets ein völlig gleichartiges Bild; kräftige Entwickelung längs des ganzen Stichkanals von der Tiefe bis zur Einstichöffnung hinauf und nicht die geringste Ausbreitung über die Oberfläche des Nährbodens. Diese oft wiederholten Wahrnehmungen mußten zu dem Schlusse führen, daß hier nur eine einzige Art, nämlich Bact. lactis acidi, gegenwärtig sei, welcher durch alle bisher ausgeführten eingehenderen Untersuchungen bestätigt wurde.

Bei erneuten Arbeiten über diesen Gegenstand fielen mir nun gelegentlich unter den beschriebenen, im allgemeinen für Bact. lactis acidi charakteristischen Stichkulturen einzelne dadurch auf, daß sie eine eben wahrnehmbare Andeutung von Oberflächenwachstum erkennen ließen. Doch war diese Abweichung so gering, daß sie mich kaum veranlaßt hätte, die Identität jener Kulturen mit solchen von Bact. lactis acidi zu bezweifeln, sofern sich nicht weitere, auffallendere Erscheinungen dazu gesellt hätten. Wenn nämlich in die Tiefe einer solchen Kultur behufs Entnahme reichlicheren Impfmaterials ein Einstich gemacht worden, hinterließ die Nadel nach ihrer Entfernung aus dem Stichkanal eine Säule feinster Gasbläschen, die sich langsam vergrößerten. Dieselbe Erscheinung wiederholte sich, so oft der Einstich an einer beliebigen Stelle der Gelatine im Umkreis der Kolonie erneuert wurde. Aus dieser Beobachtung ging hervor, daß durch daß Wachstum der Kolonie geringe Mengen von Gas entstehen, die jedoch im Nährboden absorbiert zurückbleiben und erst durch einen äußeren Anstoß plötzlich entbunden werden.

Der Umstand, daß bei unzweifelhaften Kulturen von Bact. lactis acidi niemals etwas Aehnliches beobachtet werden konnte, mußte die Vermutung hervorrufen, daß hier eine Art vorläge und zu eingehenderen Nachforschungen anregen.

Es ließ sich zunächt weiter schließen, daß die Gasbildung auf Kosten des Milchzuckers der Molkegelatine erfolge, denn an Kulturen in zuckerfreier Fleischwassergelatine blieb jene Erscheinung regelmäßig aus. In sterilisierte Milch übertragen rufen jene Kulturen etwas langsamer als Bact. lactis acidi Säuerung und Gerinnung hervor, wobei in den meisten Fällen eine deutliche, wenn auch geringe

1) Jene nur in höherer Temperatur gut gedeibenden Arten (insbesondere gilt dies für den Linksmilchsäure bildenden Bacillus) spielen hier kaum eine Rolle.

Gasbildung beobachtet werden kann. Gelegentlich bleibt die Gasentwickelung aus und die Kulturen bieten dann vollkommen das Bild einer durch Reinkultur von Bact. lactis acidi, welches niemals Gase bildet, gesäuerten und geronnenen Milch dar; wenn man aber das Koagulum ein wenig im Röhrchen schüttelt, tritt sofort eine ziemlich heftige Entbindung von Gas ein, wodurch nicht selten das ausgeschiedene Kaseïn von der Molke getrennt und an die Oberfläche gerissen wird.

Die mikroskopische Untersuchung dieser Kulturen zeigt einen Mikroorganismus, der nach Form und Größe dem Kurzstäbchen der sauren Milch nicht unähnlich ist, sich jedoch bei näherer Betrachtung als ein Coccus von jenem unterscheiden läßt. Daß hier in der That eine mit Bact. lactis acidi zwar vielfach übereinstimmende, aber doch spezifisch von ihm verschiedene Art vorliegt, erhebt schließlich die Untersuchung der Stoffwechselprodukte über allen Zweifel. Das in Milch gebildete Gas, dessen genauere Analyse ich noch nicht ausgeführt habe, besteht zum großen Teil aus Kohlensäure. Flüchtige Säuren treten ebenso wenig wie in den Milchreinkulturen des Bact. lactis acidi auf, und als Hauptprodukt der Gärung erweist sich wie dort optisch aktive Milchsäure; indessen nicht die rechtsdrehende, sondern die linksdrehende Modifikation (mit rechtsdrehendem, 12,9 Proz. Krystallwasser enthaltendem Zinksalze).

Den hier kurz charakterisierten Coccus, dessen genauere Beschreibung ich mir vorbehalte, habe ich wiederholt in freiwillig geronnener Milch, in einigen Proben sogar recht zahlreich neben Bact. lactis acidi nachweisen können. Ich glaube daher, daß dieser Befund geeignet sein dürfte, zur Erklärung jenes von Günther und Thierfelder beobachteten reichlichen Auftretens inaktiver Milchsäure in spontan geronnener Milch beizutragen. Indessen werden eingehendere Untersuchungen über die Häufigkeit des Vorkommens jener Art in Milch und über das Maß ihrer Beteiligung an dem freiwilligen Säuerungsprozeß näheren Aufschluß zu geben haben.

26. November 1896.

Pilzkrankheiten land- und forstwirtschaftlicher Kulturgewächse im Hannoverschen während des Sommers 1896[1].

Von

Dr. C. Wehmer

in

Hannover.

I. Auf Getreide.

1. „Befallenwerden" des Weizens (Schwärze z. T.)

Die Erscheinung war stellenweise ziemlich verbreitet, erreichte aber nur auf Feldern von weniger günstiger Lage eine beträchtliche

1) Es beziehen sich die hier referierten Beobachtungen in der Hauptsache auf den

Ausdehnung. Das gilt insbesondere für feuchter gelegene Aecker in etwas tieferer und teilweise geschlossener Lage in gebirgigen Teilen des Gebietes (am Deister, Süntel sowie im Weserthal), wo sie stellenweise jährlich (also auch bei günstigeren Witterungsverhältnissen) so reichlich auftreten soll, daß gewisse Felder (Weserthal) dieserhalb verrufen sind. Auf frei gelegenen Feldern fehlte sie so gut wie ganz, während benachbarte tiefer gelegene mehrfach einen Aehrenausfall von schätzungsweise einigen Prozenten gaben (Nienfeld a. D.).

Neben den rußfarbenen Bezügen von Cladosporium fanden sich auf den befallenen Aehren vielfach hellziegelrote Vegetationen eines Fusarium, das gelegentlich auch allein vorhanden war. Nach Aussehen der schlanken, spitz auslaufenden Konidien (mit durchweg 5 Septen) handelt es sich hier wohl um die von Woronin[1]) als F. roseum (Lnk.) angesprochene Art, die dieser, wie Paltschewsky und Epoff, auch auf dem ussurischen Taumelgetreide fanden. Allerdings giebt Saccardo für diese Species typisch 4-zellige Konidien an. Wie sich dieselbe zu anderen als an gleichem Orte vorkommend [2]) angegebenen stellt (F. tritici Eriks., F. heterosporum Nees v. Es., F. Schribauxii Delacr., F. avenaceum Rostr. etc.) bleibe hier unerörtert und ist das auch so ohne weiteres nicht zu entscheiden. Voraussichtlich ist es dieselbe, welche von Anderen als F. heterosporum Nees bezeichnet wird.

Das „Befallen" beschränkte sich fast ausschließlich auf die Aehren, die bald in toto, bald nur in ihrem oberen Teile (bis zur Hälfte herab), seltener an isolierten Stellen von der Pilzvegetation bedeckt waren und in dieser Ausdehnung dann auch taub blieben. Jedenfalls waren die Körner auch im günstigsten Falle zur Erntezeit nur halb entwickelt, geschrumpft und verpilzt, in anderen Fällen fehlte ein Kornansatz nahezu ganz. Ueber das Verhältnis dieser Pilze, insbesondere des Cladosporium zum Absterben der Pflanze (Ursache oder Folge) liegen bekanntlich schon wiederholte Aeußerungen vor. Uebrigens beobachtet man sowohl ein „Befallen" nur einer Aehre des sonst gesunden Stockes wie auch ein solches aller Aehren des dann frühzeitig abgestorbenen Stockes.

Daß die Erscheinung ihre eigentliche Ursache in äußeren Verhältnissen (Standort, Feuchtigkeit) hat, ist (für unseren Fall wenigstens) zweifellos und wurde speziell für das „Taumelgetreide" ja auch bereits von Woronin hervorgehoben. Die nachteilige Wirkung derart befallenen Weizens (die nach dem soeben genannten möglicherweise eine Folge der durch Fusarium oder Cladosporium be-

durch die Linien Hannover-Hildesheim-Hameln-Bückeburg begrenzten mittleren Teil der Provinz (Deistergebiet mit Umgebung).

1) Botan. Zeitg. 1886.

2) Cf. Frank, Pflanzenkrankheiten. II. Aufl. Bd. II. p. 358; Kirchner, Krankheiten landwirtschaftl. Kulturpflanzen. 1890. p. 11; Saccardo, Sylloge, Bd. 4. p. 694 u. f. (als auf Gräsern vorkommend werden hier allein schon über 6 Species aufgezählt). Tubeuf, Pflanzenkrankheiten. 1895. p. 538. — F. heterosporum wurde von einigen (Frank, Smith, Rostrup u. A.) als Parasit betrachtet, doch hebt Frank in der neuen Auflage seines Lehrbuches den saprophyten Charakter hervor. Von denen des F. Solani sind die Konidien jener Art auf den ersten Blick zu unterscheiden.

wirkten Zersetzung ist) kommt für unsere Verhältnisse, wo jedenfalls auch die Behandlung des Kornes eine sorgfältigere ist), wohl nicht in Frage [1]). Eine Uebertragung der Pilze durch das Saatmaterial auf die neue Generation ist bei der im Gebiete allgemeiner üblichen Kupferung wohl ausgeschlossen; dieselben finden sich somit spontan unter für sie günstigen Bedingungen, welche sie in nassen Sommern insbesondere an gewissen Lokalitäten vorfinden, ein.

Weshalb das „Befallenwerden" in unserem Gebiet nur den Weizen betraf, vermag ich nicht anzugeben, thatsächlich blieben gleich situierte Roggenfelder derselben Lokalitäten von der Erscheinung verschont und so soll es nach Angabe von Landwirten auch in anderen Jahren sein. (Befallener Roggen kommt übrigens gelegentlich im Harzgebiet auf sehr ungünstig gelegenen Feldern vor.)

2. Rost (Puccinia-sp.).

Auf Weizen und Roggen in den verschiedenen Formen (Fleckenrost, Streifenrost etc.) von ziemlich allgemeiner Verbreitung. ohne im ganzen sichtbaren Schaden anzurichten, selbst da, wo auf Feldern die mittleren und unteren Blätter fast jeden Halmes mit Sporenhäufchen besetzt waren. Uebrigens war diese Erscheinung auch in den vorhergehenden Jahren, insbesondere auf Weizenfeldern des flachen Landes, nicht selten (Wülfel bei Hannover) und darf wohl fast als Regel angesehen werden. Da die Wirtspflanzen der Becherformen zum guten Teil ziemlich selten sind, und das Aecidium auf ihnen noch weit seltener [2]), muß für die massenhafte, sehr verbreitete Infektion wohl noch eine andere Quelle in Frage kommen. — Haferfelder wurden immer nur an einzelnen Halmen befallen (Deistergebiet), hier war die Wirkung auch eine ausgesprochen schädliche, indem solche Halme merklich kränkelten und in der Entwickelung zurückblieben.

3. Flugbrand (Ustilago Carbo Tul.).

Im Auftreten ungleichmäßig, vereinzelt oder auch häufiger, insbesondere auf Hafer, seltener auf Gerste [3]). Stellenweise war der auf ersterem angerichtete Schaden nicht ganz unbedeutend und mochte bis 1 Proz. Ernteausfall betragen (Wiersen a. D.). Eine besondere Behandlung des Saatgutes ist jedenfalls in dem größeren Teile des Gebietes nicht üblich (mit Ausnahme des Weizens). Gelegentlich erstreckte sich die Vernichtung nur auf die Hälfte der Rispe, während die andere Hälfte normalen Körnerertrag gab.

4. Stengelbrand des Roggens.

Im ganzen selten und nur vereinzelt; ohne praktische Bedeutung.

1) Nach Versuchen Lopriores soll derartiges Getreide auch nicht gerade immer giftig sein. (Ber. d. Botan. Gesellsch. 1892). Cf. auch die Mitteilungen Eriksson's über den schwedischen „Taumelroggen". („Om Oer-räg" in Kgl. Landsk. Acad. Handl. Stockholm 1883), sowie von Prillieux über französischen Taumelroggen, der jedoch einen anderen Pilz in den Körnern fand (Compt. rend. 1891. p. 894).

2) Auch auf den mehrfach in Anlagen noch vorhandenen Berberis-Sträuchern ist das Aecidium hier eine Seltenheit. Gleiches gilt für Rhamnus, Anchusa etc.

3) Die verschiedenen Formen des Ustilago Carbo Tul. sind hier (ebenso wie die der Rostarten) unwesentlich.

5. Steinbrand des Weizens.

Wurde nirgends auffällig beobachtet und war auch nach eingezogenen Ermittelungen jedenfalls selten. Bei seiner gefürchteten Wirkung haben die Landwirte ihn jedenfalls am meisten von den hierher gehörigen Krankheiten im Auge und die Beizung des Saatweizens ist dieserhalb eine allgemeiner geübte Operation, deren Wert voll anerkannt wird.

6. Mutterkorn (Claviceps purpurea Tul.).

Im letzten Sommer überall nur vereinzelt und selten, so daß selbst auf Feldern, die es in anderen Jahren mehrfach aufwiesen (Limmer, Benthe) nur ganz seltene verkümmerte Körner aufzufinden waren (Witterungseinflüsse?).

7. Mehltau (Erysiphe graminis).

Vereinzelt und ungleichmäßig (wie in anderen Jahren), insbesondere auf unteren Blättern und Internodien vom Roggen (gern neben dem Rost) ohne merklichen Schaden. Neben den Konidienträgern stets reichlich Früchte (Benthe, Empelde u. a.)[1]).

II. Auf Gartenbohnen.

1. Fleckenkrankheit (Gloeosporium Lindemuthianum Sacc. et Magn.)[2]).

Von sehr weiter Verbreitung in allen Teilen des Gebietes, insbesondere gegen den Herbst hin auf Buschbohnen, zumal in feuchteren Lagen und dann allmählich sämtliche Früchte (Hülsen) der Pflanze mit den kleinen braunen Einsenkungen bedeckend. Der Fortschritt der Krankheit ist aber im allgemeinen ein relativ langsamer und der Schaden besteht weniger in einer kaum ins Gewicht fallenden Substanzzerstörung (oder Geschmacksveränderung), als vielmehr darin, daß die befallenen grünen Hülsen unansehnlich und deshalb schlecht verkäuflich werden (partielle Entwertung). In der Litteratur wird die Erkrankung freilich als bedenklicher hingestellt.

Auf die „Bohnen" selbst (Samen) sah ich den Pilz nicht übergehen, er beschränkte sich auch bei Einlegen in die feuchte Kammer trotz des hier stark beschleunigten Wachstums auf die grünen Hülsen. Ob er trotzdem gelegentlich das Saatmaterial infizieren kann, lasse ich dahingestellt; im allgemeinen kommt das auch wohl praktisch kaum in Frage. Die Krankheit tritt relativ spät und dann erst unter ungünstigen äußeren Bedingungen (Nässe) ein, so daß also diese wesentlich mit entscheidend für die im Freien wohl stets von außen erfolgende Infektion sind. Befallen wurden nur die Früchte. Die

1) Anschauliche und durchweg gelungene Abbildungen dieser verschiedenen Getreidekrankheiten gaben neuerdings Kirchner und Boltshauser (Atlas der Krankheiten u. Beschädigungen landwirtschaftl. Kulturpflanzen. 1. Serie. Getreidearten. Stuttgart 1896).

2) Kirchner, Krankheiten landwirtsch. Kulturpfl. 1890. p. 77; Frank, Pflanzenkrankheiten. 2. Auflage. Bd. III. p. 380; Tubeuf, Pflanzenkrankheiten. 1895. p. 503; cf. übrigens auch Halsted, in: Report of the Botan. Departm. of the New-Jersey Agric. Coll. Exp. Stat. 1895.

Krankheit wie auch ihr Auftreten gegen Ende der Vegetationsperiode ist den Landwirten seit lange bekannt, wenn sie auch von dem Pilze nichts wissen.

2. Fäule der grünen Hülsen (Botrytis cinerea).

Vereinzelt trat die Erscheinung, insbesondere bei niedrigen Buschbohnen, seltener bei Stangenbohnen gegen Ende des Sommers auf. Die Früchte faulen gewöhnlich ohne sichtbare Ursache, insbesondere in Bodennähe an, verderben aber nur bei hinreichender Feuchtigkeit (Nässe) total. Späterhin findet man dann in den Büschen nicht selten knollige schwarze Sklerotien, in der Mehrzahl den toten braunen Hülsen ansitzend, und — da der Pilz auch auf die Stengelteile übergehen kann — ebenfalls auf diesen. Daß Botrytis (Sklerotinia) Ursache der Zersetzung ist, folgt einmal aus den gelegentlich vorhandenen oberflächlichen, mit der Fäulnis fortschreitenden Konidienvegetationen, andererseits aber auch aus dem Befunde des kranken Gewebes, das überall von fortschreitenden Hyphen durchsetzt ist, die im feuchten Raume schnell zu Konidienträgern hervorwachsen, welche das faule Gewebe mit dem bekannten grauen Rasen umhüllen, der alsbald auch den noch vordem gesunden Teil der Bohne bedeckt.

Eine umfangreichere Zerstörung von Früchten — und so ein merklicher Schaden — wird jedenfalls nur unter ganz besonders ungünstigen Verhältnissen veranlaßt, da Trockenheit die Fäule unreifer Bohnen versuchsgemäß jedenfalls stark beeinträchtigt. Nahezu ausgereifte Hülsen sind freilich weit empfindlicher, so daß man im Spätherbst noch zum Verkauf gebrachte Marktware mehrfach stark geschädigt sieht. Dieser Pilz ist für die in Frage stehende Frucht jedenfalls der gewöhnlichste Fäulniserreger [1]; das ist in Hinblick auf seine Häufigkeit und den fast omnivoren Charakter auch kaum auffällig.

3. Braunfleckigkeit der Laubblätter (Botrytis-Fäule) [2].

Diese Erkrankung schließt, als durch den gleichen Pilz veranlaßt, direkt an die soeben erwähnte an, fand sich aber vorwiegend an Stangenbohnen, hier einzelne Blätter oder Teile solcher vernichtend (Lauenau, Pohle, Rodenberg u. a. O.). Botrytis vermag hiernach somit auch dem Anschein nach ganz gesunde Blätter anzugreifen. Diese zeigen dann braune, oft etwas heller umrandete Flecken, die bald vom Rande, bald von der Mitte der Blättchen ausgehen, bei trockener Witterung dürr erscheinen, bei feuchtem Wetter (zumal peripher) wässerig-weich sind und dann allmählich über das ganze Blatt fortschreiten. Unterseits findet man gewöhnlich einen zarten Botrytis-Rasen die ganze verfärbte Stelle bedeckend. Theoretisch nicht ohne Interesse erscheint die Beobachtung, daß die Er-

---

1) C. Wehmer, „Untersuchungen über die Fäulnis der Früchte". (Beiträge z. Kenntnis einh. Pilze. II).

2) Als Bohnenpflanzen angreifend (Busch- wie Stangenbohne) wurde von de Bary auch die Peziza sclerotiorum (die von der oben genannten Art leicht durch das Fehlen von Konidienträgern unterscheidbar ist) beobachtet. (Botan. Zeitg. 1886. Nr. 25. p. 433.) In ihrem Verhalten gegenüber lebenden Pflanzen verschiedenster Art zeigen beide Species jedenfalls viel Gemeinsames.

scheinung sehr regelmäßig auch auf Blättern sich findet, die oberseits durch Vogelexkremente verunreinigt sind; die Bräunung sowie unterseitige Botrytis-Vegetation geht dann genau von dieser Stelle aus. Hier muß also thatsächlich eine Benachteiligung durch die an sich sehr geringfügige Menge des in seiner Hauptmasse auch alsbald verschwindenden (Abspülen durch Niederschläge) Exkrements stattfinden, als deren Folge dann Botrytis auftritt und bei nasser Witterung sich ausbreitet. Unbedingt notwendig ist aber diese vorausgehende Verunreinigung des Blattes nicht.

Da der Pilz im allgemeinen nur einzelne Blätter ergreift und sich überdies erst gegen Ende des Sommers auffällig macht, ohne selbst bei nasser Witterung stark um sich zu greifen, kann von einem merklichen Schaden wohl keine Rede sein.

4. Cladosporium.

Mehrfach trat eine zum Absterben führende Deformation der Spreite (Krauswerden) auf, deren Ursache aber trotz Anwesenheit von Pilzen wohl in einer voraufgegangenen Insektenschädigung (Blattläuse) zu suchen ist. Später sind die Blätter dicht von einer grünschwarzen Vegetation von Cladosporium herbarum bedeckt, der sich auch kleinere Räschen von Botrytis zugesellen können. Ob der erstgenannte Pilz dabei ursächlich mit in Frage kommt oder etwa später das kränkelnde Blatt schädigt, vermag ich nicht zu entscheiden.

5. Rost (Uromyces Phaseoli [Pers.]).

Die Erkrankung war gegen Ende des Sommers, zumal auf den älteren Blättern der Vietsbohne, ziemlich verbreitet (Hannover, Wennigsen, Rodenberg, Pohle u. a.), ein eigentlicher Schaden war aber nirgends zu konstatieren. Nur bei sehr dichtem Stande der Rostfleckchen fand Bräunung und vorzeitiges Absterben des Blattes statt; die Zahl solcher war aber relativ gering, zumal in den Beeten im allgemeinen auch nur vereinzelte Pflanzen ergriffen wurden. Ein Einfluß auf Blüten- und Fruchtbildung war nirgends wahrnehmbar.

III. Auf Kartoffeln.

1. Krauterkrankungen.

Vorzeitige Krautfäule durch Phytophthora fand im ganzen Gebiet statt, was in Hinblick auf die überaus ungünstige Witterung des August und September nicht auffällig ist. Das Laub früherer Sorten begann durchweg im Anfang des August rasch abzusterben, dem das der späteren in feuchteren Lagen Ende August folgte. Der bekanntlich stets an den älteren Blättern seinen Anfang nehmende Zerfall fand durchweg nach beendeter Blüte statt. Ueber den etwaigen Schaden sind allgemeine Angaben kaum zu machen, da hier die besondere Lokalität, Bodenverhältnisse, Sorte und anderes mitsprach. Bei späteren Sorten soll stellenweise die Knollenentwickelung erheblich beeinträchtigt sein; hier kommen aber die wenig günstigen Witterungsverhältnisse des Sommers und Spätsommers überhaupt schon in Frage. An anderen Orten wiederum war davon wenig zu spüren.

Vorzeitiges Vergilben des Laubes aus unbekanntem Grunde wurde auf einigen Feldern (bei Barsinghausen) Mitte August konstatiert; von irgend einer Stelle der Spreite ausgehend bräunten sich die Fiedern ohne eine sichtbare besondere Ursache [1]).

Vorbeugungsmittel gegen die Krautfäule sind im Gebiete (soweit mir solches näher bekannt) bislang nicht üblich, so daß also die Kupferbehandlung nicht angewandt wird. Nach Meinung praktischer Landwirte ist ihre Durchführung für größere Flächen zu umständlich und mit einem unverhältnismäßigen Aufwande an Arbeit und Kosten verknüpft. Ob eine allgemeinere Einbürgerung möglich, scheint hiernach wohl zweifelhaft. Uebrigens ist ja auch ihre Anerkennung von wissenschaftlicher Seite bislang keine ungeteilte und sie gerade von Göttingen, der Versuchsstation unserer Provinz aus (Liebscher), nicht besonders empfohlen.

2. Knollenerkrankungen.

Die andauernd nasse Witterung hat die diesjährige Knollenernte bekanntlich stark geschädigt; zumal in schwereren Bodenarten sind die Verluste sehr erheblich gewesen. Das stärkere Erkranken der Knollen datiert wohl im wesentlichen von der 2. Hälfte des August ab, denn der Beginn der Frühkartoffelernte (Rosenkartoffel u. a.) ergab selbst in ungünstigen Lagen (Lehmboden) trotz des Krautsterbens vorwiegend gesundes Material, während hier die späteren Sorten bis 30 Proz. kranke Knollen lieferten.

Die Krankheit war zu einem guten Teil eine primäre Bakterienfäule, ein von irgend einem Punkte der Oberfläche (gewöhnlich einer Lenticelle) ausgehendes Verfaulen schlechthin („Naßfäule"), das weder mit der Phytophthora, noch mit einer Buttersäuregärung etwas zu schaffen hatte und jederzeit durch anhaltende Nässe hervorgerufen wird. Zu einem anderen Teile äußerte sie sich in dem bekannten Braunfleckigwerden des im übrigen festbleibenden Fleisches. Aus der umfangreichen Phytophthora-Litteratur ist eigentlich nirgends einiges genauere über die besonderen Symptome der Erkrankung durch diesen Pilz zu ersehen, obgleich man ja jenes Braunwerden des Gewebes — was eben bislang nicht ganz exakt erwiesen — ausschließlich auf seine Kosten setzt. Diese Art der bereits von Schacht näher beschriebenen und treffend abgebildeten Erkrankung war jedenfalls ganz allgemein verbreitet und darf zunächst wohl aus dem Zusammenwirken von Nässe und schwererem Boden hergeleitet werden [2]), ohne daß sie deshalb auch auf Sandboden ganz ausbleibt bezw. ausblieb (Hannover, Gehrden, Benthe u. a. O.). Ihre eigentliche Ursache lasse ich hier noch ganz dahingestellt und bemerke nur, daß sie ihrerseits wieder die Veranlassung zu zwei weiteren Krankheitserscheinungen bezw. Zersetzungsprozessen war, die derartige Knollen sowohl bereits auf dem Felde wie im

---

1) Die nähere Untersuchung verlief resultatlos, da Pilze auch mikroskopisch nicht nachweisbar waren. Pilze auf altem Kartoffellaub findet man natürlich jederzeit.

2) Ueber die bezüglichen Ermittelungen ist in Kürze a. a. O. ausführlicher zu berichten. Die Sachlage ist aber keineswegs eine so einfache, wie man gewöhnlich annimmt und wie sie durchweg dargestellt wird.

Winterlager zu befallen pflegen: sekundäre Bakterienfäulnis („Naßfäule") und Pilzfäule („Trockenfäule"), welch' letztere in erster Linie durch Fusarium Solani hervorgerufen wird [1]). Den letztgenannten Pilz findet man — wie hier hervorgehoben werden mag — bereits auf dem Felde, an der Knollenzerstörung thätig, und ich habe ihn an keiner der untersuchten Lokalitäten vermißt. Daß der Pilz seinen Weg in die lebende Knolle oft durch Wundstellen oder tote Partieen nimmt, kann an seinem (fakultativ) parasitären Charakter und somit auch an seiner biologischen Wertschätzung natürlich wenig ändern.

IV. Auf Obstbäumen.

1. Schimmel des Obstes (Monilia fructigena Pers.)

Das Auftreten des Pilzes auf reifenden Früchten war im Gebiet jedenfalls ein sehr verbreitetes und der durch ihn an manchen Orten angerichtete Schaden ist kein ganz unbedeutender (Nienfeld, Lauenau a. D.). Daß feuchte Lagen ihn besonders aufkommen lassen, nimmt kein Wunder. Der Schaden wird noch dadurch vergrößert, als die ihm geschenkte Aufmerksamkeit gleich Null ist; man beachtet ihn nicht.

Am häufigsten war er auf Apfelbäumen und Pflaumen bezw. Zwetschen (insbesondere im Deistergebiet), fehlte jedoch auch nicht auf Birnen, Kirschen und Aprikosen, die er bekanntlich sämtlich rasch vernichtet.

Von Aepfeln bevorzugte er frühe Sorten (Augustapfel, Silberpepin u. a.); die jungen, halb ausgewachsenen Früchte verschimmelten (wie auch Pflaumen) teilweise bereits auf dem Baume (Juli, August), teils fielen sie leicht angefault ab, um am Boden total zersetzt zu werden („Schwarzfäule"). Bei dichterem Stande war mehrfach eine direkte Ansteckung durch Berührung zu konstatieren, wenngleich sie nicht Regel ist. Es mag da mancherlei mitsprechen: Verletzungen der Oberhaut, Epidermisbeschaffenheit, Feuchtigkeit der Atmosphäre etc. Die am Boden liegenden schwarzfaulen Früchte vergehen — eigentlich wider Erwarten — ziemlich rasch unter totaler Zersetzung, die sogenannte „antiseptische" Wirkung des Pilzes ist also eine nur sehr bedingte und thatsächlich verschimmeln auch angefeuchtete schwarzfaule Aepfel sehr leicht, während trockene „Mumien" jahrelang ohne Veränderung haltbar sind. Der Schaden war stellenweise so erheblich, daß kleinere, allerdings reichlich tragende Bäume (Silberpepin) im Laufe der beginnenden Reifezeit viele Dutzend bis einige Hundert kranker Früchte lieferten. Uebrigens darf im ganzen die Stellung der Konidienpolster in konzentrischen Kreisen wohl mehr als Ausnahme gelten [2]), wenigstens überwog in der großen Zahl beobachteter Fälle eine regellose Anordnung erheblich.

Der parasitische Charakter des Pilzes wird heute wohl kaum

1) C. Wehmer, Ueber die Ursache der sogen. „Trockenfäule" der Kartoffelknollen. (Ber. der Botan. Gesellsch. 1896. p. 101). Als Trockenfäule bezeichnet man übrigens sonst auch wohl das oben erwähnte Braunwerden.

2) Cf. Tubeuf, Pflanzenkrankheiten. p. 515.

noch bezweifelt[1]); die mehr oder weniger derbe Natur der Epidermis dürfte darüber entscheiden, ob er direkt durch diese eindringt oder irgendwelche Oeffnung bezw. Verletzung voraussetzt; die Zersetzung des gesunden Gewebes ist dann durchweg eine außerordentlich schnelle.

Uebrigens scheint mir bezeichnend, daß dieser Pilz ganz vorwiegend die Fruchtschale bewohnt, und gerade an diesem Orte ein sehr ergiebiges Wachstum der Hyphen stattfindet. In der That stellt die dadurch an Derbheit und Dicke stark zunehmende eintrocknende Fruchtschale des unversehrten Apfels (oder Birne), welche überdies weiterhin das charakteristische schwarzglänzende Aussehen bekommt, endgiltig ein sklerotiales Gewebe (Sclerotium) dar, aus dem ich nach dem Wiederbefeuchten allerdings bislang Fruchtkörper nicht erhalten konnte (die zerschnittenen pergamentartigen Stücke wuchsen jedoch zu graugelblichen Konidienpolstern aus, Monilia-Fruktifikation). Uebrigens habe ich platte schwarze Sklerotien auch in von den Konidien abgeleiteten künstlichen Kulturen erhalten, so daß der Pilz vielleicht besser als Sclerotinia fructigena zu bezeichnen wäre[2]).

Mit der durch die gewöhnlichen Fäulnispilze des Obstes[3]) bewirkten Zersetzung hat die durch diesen Pilz eingeleitete somit nur eine entfernte Aehnlichkeit, weicht vielmehr in einer Mehrzahl von Punkten von ihr ab.

Von anderen befallenen Obstsorten seien noch Zwetschen und Pflaumen (blaue wie grüne) erwähnt. Gerade wie bei den Aepfeln greift er auch bei diesen Früchten gelegentlich noch nach Abnahme vom Baume stark um sich, so daß zum Verkauf gebrachtes Marktobst (Hannover) mehrfach durch ihn angefault war. Auch die Gefahr der Ansteckung bereits auf dem Baume ist, wie es scheint, bei dieser Fruchtart etwas größer. Sehr erheblich scheint sie in nassen Sommern und an feuchtem, geschlossenem Standort aber bei der Kirsche zu sein, von der ein Baum beobachtet wurde (Barsinghausen, Glaskirsche), dessen reifende Früchte in der überwiegenden Mehrzahl von dem Pilz befallen und wenigstens partiell vernichtet wurden.

Bei dieser Frucht genügt (wie in bezüglichen Versuchen festgestellt wurde) ein Bestreuen unverletzter gesunder, in bedeckten Gefäßen gehaltener Früchte mit Konidien zur regelmäßigen und schnellen Erzielung der Ansteckung (was beim Apfel nicht stets der Fall ist); sie — wie auch der Pfirsich — ist somit ausnehmend

1) Frank stimmt dem freilich nicht unbedingt bei (Pflanzenkrankheiten. 2. Aufl. Bd. II. p. 561), wenngleich es nach v. Thümen auch von Cavara, Smith, Briosi u. A. angenommen wurde.

2) In den Kulturen Galloway's traten, wie es scheint, nur wieder Konidien auf. Uebrigens wächst der Pilz auf Zuckerlösungen, Bierwürze etc. nicht schlecht und ist verhältnismäßig leicht zu kultivieren. — Die zum Sclerotium werdende Fruchtschale des Apfels vervielfacht dabei ihre Dicke und nimmt innen wie außen jene für die „Schwarzfäule“ bezeichnende dunkle Färbung an. Die resultierende Derbheit bedingt auch in der Hauptsache die für Monilia-faules Obst bezeichnende Festigkeit („Hartfäule“).

3) Im wesentlichen Penicillien und Mucorineen. Cf. C. Wehmer, Untersuchungen über die Fäulnis der Früchte. (Beiträge z. Kenntnis einh. Pilze. Heft II.)

empfindlich[1]). Die verschiedenen Sorten zeigen dabei nicht merkliche Unterschiede (vielleicht mit Ausnahme der Sauerkirschen, welche gegen Fäulnis weniger empfindlich sind).

Seltener wurde der Pilz auf Birnbäumen beobachtet, vielleicht weil die Zahl dieser überhaupt geringer ist. Er fehlte hier aber weder auf frühen, noch auf späten Sorten (Winterbirnen); so fand er sich noch Mitte Oktober auf mehreren Früchten eines Baumes (Wennigsen a. D.) in zahlreichen Polstern kurz vor der Ernte. Daß übrigens auch Winteräpfel jeder Sorte empfänglich sind, kann man leicht durch Infektionsversuche feststellen.

Der durch die Monilia angerichtete Schaden würde noch beträchtlicher sein, wenn in den Wochen nach der Ernte (und auch späterhin noch) nicht regelmäßig die erkrankten Früchte ausgelesen würden. Er wäre aber wohl wesentlich zu verringern, wenn man dem Pilze an den stärker von ihm heimgesuchten Lokalitäten insbesondere in nassen Sommern bereits auf dem Baume einige Aufmerksamkeit schenkte; bislang ist das in unserem Gebiete nicht der Fall.

2. Fäulnis reifer Früchte am Baume.

Es hatten darunter insbesondere die Zwetschen zu leiden, welche bei der nassen Witterung in weiter Verbreitung (zumal vom Stielende aus) anfaulten, so daß die Ernte stellenweise eine an Qualität sehr schlechte war, und gesunde tadellose Früchte dem hiesigen Markt als Seltenheit zugeführt wurden. Nach angestellten Ermittelungen war der Haupturheber dieser Fäule Mucor piriformis Fisch., der zu verschiedenen Zeiten aus derartigen Früchten leicht isoliert werden konnte; außerdem kam insbesondere noch die obengenannte Monilia in Betracht.

In vereinzelt dastehenden Fällen trat auch Botrytis auf; so auf einer Birne (Beregris) und einer Maulbeere. Die reifenden Früchte der letzteren verschimmelten zu einem Teile noch auf den Stielen (Nienfeld a. D.).

3. Taschenbildung der Zwetsche (Exoascus Pruni Fckl.).

Vereinzelt auf Bäumen, zumal im waldigen Teile des Gebietes (Deister, Süntel), doch ohne nennenswerten Schaden anzurichten. Im großen und ganzen darf die Erscheinung auch wohl zu den selteneren gerechnet werden. Die Zwetschenernte stark dezimierend, wurde der Pilz nur einmal in einem Obstgarten unweit Nordheim (vor einigen Jahren) beobachtet, wo sämtliche Bäume dicht mit erkrankten Früchten behangen waren. Trotz des nach Angabe jährlichen Wiedererscheinens, ließ man die Sache aber ruhig ihren Gang gehen[2]).

1) Ein Durchwachsen der Epidermis gesunder Teile sah auch Humphrey bereits (Am. Report. Massach. Agric. Experim. Station. 1891). Smith konstatierte gleichfalls die Empfindlichkeit des Pfirsichs (Journ. of Mycology. 1889).

2) Es ist das bedauerlicherweise auch bei anderer Gelegenheit an vielen Orten der Fall. So sei hier nur auf die in unserer Provinz vielfach die Obstbäume schädigende Mistel (Viscum album) verwiesen. Der einzige Fall, in dem man hier allgemeiner Schädlingen planmäßig entgegenzuwirken pflegt, dürfte bislang die Beizung des Saatweizens (gegen Schmierbrand) sein.

4. Rußtau der Blätter (Fumago).

Trat an manchen Orten sehr stark auf, und zwar durchweg auf Zwetschenbäumen, solche an einzelnen Orten ganz bedeckend. Ueber den etwaigen Nachteil sind bestimmte Angaben kaum zu machen; jedenfalls war er nicht direkt ins Auge fallend.

5. Rotfleckigkeit der Pflaumenblätter (Polystigma rubrum [Pers.]).

Wurde nur ganz vereinzelt beobachtet und ist ohne praktische Bedeutung.

6. Gitterrost (Roestelia cancellata Rbnt.).

Ab und zu vorkommend, doch im Gebiet ohne praktische Bedeutung.

7. Stachelbeerrost (Aecidium Grossulariae D. C.).

Vereinzelt und selten (Hannover, Hildesheim).

8. Nectria cinnabarina Fr.

Mehrfach auf dichtstehenden Johannisbeerbüschen (mit massenhaften Perithecien); ebenso auf jungen Wallnußzweigen in der gleichen früher bereits von mir geschilderten Weise [1]) (Nienfeld a. D.).

9. „Schwarzer Fluß“.

Ausfließen einer schwarzbraunen, wässerigen, bakterienreichen Flüssigkeit aus dem (bisweilen bloßgelegten) Holzkörper mittelalter sonst gesunder Apfelbäume wurde mehrfach beobachtet. Ueber die eigentliche Ursache war Näheres nicht zu ermitteln, jedenfalls handelt es sich um innere Zersetzungsprozesse des Kernholzes durch irgendwelche Organismen.

10. Holzerkrankung durch Baumschwämme.

Sehr verbreitet ist Polyporus igniarius (L.) inbesondere an Apfelbäumen (und Zwetschen) im ganzen Gebiet, sowohl in Obstgärten wie an Chausseen. Die Bäume sind bald äußerlich gesund, bald im Absterben begriffen. Daß man den Pilz stellenweise durch Ausschneiden der Hüte zu bekämpfen versucht, ist natürlich fruchtlos.

Stellenweise fand sich auch Polyporus sulfureus in zum Teil großen konsolenartigen flachen Hüten an Zwetschenbäumen (Hattendorf, Nienfeld).

Pholiota squarrosa Müll. (Schüppling) kam vielfach am Grunde von Apfelbäumen vor, so besonders in der Umgegend von Stadthagen, Lauenhagen, Lauenau u. a. O. Der Pilz gehört offenbar zu den verderblichsten, noch nicht allgemeiner näher gewürdigten Baumschwämmen und ist bezüglich seiner Wirtspflanze ja auch wenig wählerisch (häufig auch an Buchen und Eschen, Erlen, Robinien etc.). Er greift den Baum an der Wurzel vom Boden aus an (Wunden?)

1) Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten. 1895.

und erzeugt eine zum endlichen Zusammenbruch führende intensive Stockfäule[1]), bei der der massive Holzkörper, vom Kernholz anfangend, total zerfasert wird.

Armillaria mellea (Hallimasch) wurde in einem Falle an einem alten, sonst aber gesunden Nußbaume (Juglans regia) beobachtet, aus dessen Rinde in Brusthöhe zahlreiche Hüte hervorbrachen (Nienfeld). An Fichten im Solling ist er jedoch nicht selten, ebenso kommen seine Hüte bei Hannover jährlich an lebenden Buchen, Hainbuchen (selbst an Kastanien und Eichen) vor, während der Pilz hier an Nadelholz gleichen Standorts ganz fehlt (cf. unten). Daß er also auch Laubbäume ergiebig schädigen kann, ist somit nicht mehr zweifelhaft. Für Eichen ist das übrigens auch schon von R. Hartig angegeben.

V. Auf Klee.

Vereinzelt trat Mehltau (Erysiphe Martii Lev.) auf Steinklee (Trifolium repens L.) auf, beschränkte sich jedoch in solchen Fällen auf den schmalen (ca. 5 m breiten) im Waldesschatten liegenden Rand des Feldes (Pohle a. D.), wo die Pflanzen verkümmerten.

VI. Auf Zwiebeln.

Oberirdische. grüne Teile von Küchenzwiebeln verfaulten stellenweise (Pohle a. D., Nienfeld) unter Auftreten grauer Rasen von Botrytis, die dann, ausgehend von der absterbenden Spitze, in die Zwiebel hineinwuchs und so den Beginn der Sklerotienkrankheit einleitete. Auf den inneren Schuppen fanden sich gelegentlich auch Rasen von Penicillium glaucum, welche dem Anschein nach gleichfalls zerstörend auf das saftige Gewebe einwirken kann. Andauernde Nässe giebt hier, wie auch sonst, wohl den eigentlichen Anstoß, wenn auch der Zersetzungsprozeß im Inneren alsdann ohne diese weitergeht.

VII. Auf Gurken.

Faulen der Früchte trat vereinzelt auf und nur in schattiger, feuchter Lage. Erreger der Fäulnis existieren offenbar mehrere[2]) und sind nach Fall verschieden. In einem Falle handelte es sich um eine Bakterienfäule (Kloster Wennigsen) unter Auftreten eines penetranten Geruches. Näheres konnte jedoch nicht ermittelt werden. Mehrfach war aber ein Fusarium die nachweisliche Ursache, welches bei anhaltend nasser Witterung junge wie ältere Früchte (ebenso junge Blatt- und Stengelteile) angreift und in eine weiche breiige Masse verwandelt. Im feuchten Raume geht die Zersetzung ungemein schnell weiter, während sie unter günstigeren

1) Nach Beobachtungen an einer Esche, die an einem windstillen Tage plötzlich zusammenbrach und deren Stammbasis bis auf den Splint von dem Pilze ausgehöhlt war. Aeußerlich war der Baum bis dahin unversehrt und dem Aussehen nach ganz gesund.

2) Cf. die Mitteilungen von Frank und Aderhold.

Kirchner (l. c. p. 214) führt als auf den Früchten vorkommend Gloeosporium orbiculare Berk. und Phoma decorticans de Not. (die aber wohl nicht speziell fäulniserregend wirken) auf.

Witterungsverhältnissen über einzelne weiche, von Hyphen erfüllte Faulflecke kaum hinausgeht.

Ueber die Species kann ich einstweilen nichts Sicheres sagen. Die Konidien sind denen des F. Solani sehr ähnlich (nach Gestalt, Größe wie Septenzahl) und bleibt das Weitere durch Kultur festzustellen. Neue Species allein nach der Nährpflanze oder auf Grund eines besonderen Falles aufzustellen, ist natürlich ungerechtfertigt, zumal wo nicht einmal eine genaue Diagnose des vollständigen Pilzes gegeben werden kann. Nach den vorliegenden Diagnosen zweier als auf Gurken oder Kürbis vorkommend angegebenen Species (F. reticulatum Mont. und F. oxysporum Schacht.)[1]) ist auch nicht zu sagen, ob es sich um diese bezw. eine derselben handelt. Es fehlen uns hier, wie in so vielen anderen Fällen, noch vergleichende Kulturversuche, die erst über den Wert mancher Merkmale sicheren Aufschluß geben können. Die Zahl neuer Species würde damit wohl erheblich sinken und der Sache selbst (gegenüber der stellenweise noch üblichen Speziesmacherei) nur genützt werden.

VIII. Auf Rosenbüschen[2]).

1. Rost (Phragmidium subcorticium [Scholz]).

Nicht selten auf Büschen feuchter (geschlossener) Standorte und da merklich schädigend (Barsinghausen, Hannover, Lauterberg u. a. O.). Jährlich wieder erscheinend. An einigen Orten soll er (mit Erfolg?) durch Spritzmittel bekämpft werden.

2. Mehltau (Sphaerotheca pannosa Lév.).

Vereinzelt, aber sehr nachteilig junge Triebe und Knospen schädigend (so auf Kulturrosen des hiesigen Welfengartens).

3. Rußtau (Fumago salicina Tul.).

Stellenweise junge Büsche stark überziehend, die dann vorzeitig die Blätter abwarfen (Juli), und neu zu treiben begannen. Die starke Pilzentwickelung dürfte im allgemeinen wohl Folge ebensolchen Blattlausauftretens sein.

4. Knospenfäule.

Vereinzelt auf in hochumschlossenen kleinen Gärten stehenden Stöcken; die noch ungeöffneten Knospen verfaulen unter gänzlicher Durchdringung mit Botrytis-Mycel und überziehen sich mit grauen Konidienrasen. Hier wie auch in anderen Fällen, wo Botrytis knospenzerstörend wirkt (Aster und andere Kompositen), ist natürlich stets Nässe das Anstoßgebende.

1) Saccardo, Sylloge. Bd. IV. p. 705.

2) Rosenkrankheiten scheiden, streng genommen, von den hier aufgezählten Krankheiten aus. Bei den Rosenkrankheiten wäre beiläufig auch des sehr verbreiteten Rotfleckigwerdens der Blätter zu gedenken, über das ich bisherige Angaben in der Litteratur nicht finde. Pilze kommen dabei jedoch nicht in Frage; vielleicht sind Blattläuse die Ursache. Die Erscheinung wurde seinerzeit von Ost näher verfolgt, welcher sich gegen die von anderer Seite vertretene Annahme, daß hier Schädigungen durch Fabrikgase (Säuren) vorlägen, entschied („Untersuchung von Rauchschäden" in Chemiker-Zeitung. 1896. No. 18). Die Erscheinung ist deshalb auch nicht ohne Interesse, weil sie in Hannover mit Gegenstand eines sich lange hinziehenden Rechtsstreites (Entschädigungsklage) war.

IX. An Eichen[1]).

Zersetzungserscheinungen des Holzkörpers (Holzfäule) lebender Waldbäume sind im Gebiete nicht gerade häufig. Eine Ausnahme macht jedoch der Hannoversche Stadtwald („Eilenriede“), welcher in besonders hervortretender Weise eine größere Zahl parasitischer Baumschwämme beherbergt, und dieserhalb von einem gewissen Interesse ist. Auf ihn beziehen sich auch in der Hauptsache die folgenden Notizen. Der verursachte Schaden, insbesondere durch Zerstörung des Holzes, ist in mehreren Fällen ein merklicher, wenn auch natürlich für ein einzelnes Jahr nicht abzuschätzen.

Polyporus sulfureus (Bull.). Mehrfach als Rotfäule-Erreger vorkommend; die Hüte erscheinen an den kranken Bäumen jedoch nicht regelmäßig jedes Jahr.

Polyporus frondosus (Schrad.). Sehr verbreitet am Grunde älterer Stämme auf in Zersetzung begriffenen Hauptwurzeln. Bildet auf der Hutunterseite fädige Konidienträger, deren Sporen in Kultur ebensolche weiße Decken erzeugen.

Polyporus igniarius (L.). An verwundeten, wie auch äußerlich unverletzten Eichen mittleren wie höheren Alters; bei ersteren unterhalb stärkerer Astwunden. Von R. Hartig bekanntlich näher studiert.

Polyporus applanatus (Pers.). Vereinzelt am Grunde des Stammes älterer Bäume (sonst nur an alten Stöcken).

Fistulina hepatica (Huds.). An gesunden wie kränklichen (wipfeldürrwerdenden) Bäumen häufig. Der offenbar vom Boden in den Wurzelstock eindringende Pilz darf wohl als sehr verdächtig angesehen werden. Uebrigens erscheinen die Hüte an den von ihm bewohnten Bäumen nicht regelmäßig jedes Jahr, ohne daß dafür ein Grund zu sehen ist. So kam er in diesem Jahre an einer ganzen Reihe von im Vorjahre bewohnten Bäumen (und Stöcken) nicht wieder zum Vorschein, trotzdem er an anderen auftrat; es können also nicht etwa Witterungsverhältnisse hier allein entscheidend sein. Als verdächtig bezeichnet ihn auch Hartig bereits.

In der weiteren Umgebung findet er sich ziemlich selten (Deister, Solling).

Daedalea quercina Pers. Die Hüte wurden bislang nur an einem lebenden (verletzten) Baume beobachtet, obgleich sie sofort nach Fällung eingegangener Exemplare an dem stehenbleibenden Stock reichlich und fast regelmäßig auftreten. Ueberaus häufig und auf fast keinem Stock (insbesondere an bestimmten Lokalitäten) fehlend. Als Wurzelverderber vielleicht gleich verdächtig wie der vorhergehende und wären hier nähere Untersuchungen sehr wünschenswert.

Stereum hirsutum und Corticium quercinum vereinzelt vorkommend.

1) Die baumbewohnenden Schwämme wurden bislang nur von wenigen Autoren näher berücksichtigt. Cf. Hartig, Lehrbuch der Baumkrankheiten. 2. Aufl. 1889, sowie v. Tubeuf, Pflanzenkrankheiten. 1895 und die Spezialarbeiten des ersteren. — Insoweit derartige Pilze den — wenngleich toten — Holzkörper lebender Bäume zerstören, qualifizieren sie sich naturgemäß als Krankheitserreger des Gesamtorganismus. Manche der hier aufgenannten Arten sind bislang noch kaum näher beachtet.

IX. An Buchen.

Stammfäule lebender Buchen ist mit Ausnahme des genannten kleineren Bezirks im Gebiet nicht häufig; dort tritt aber wiederum eine Mehrzahl großer Hymenomyceten als Ursache auf. Uebrigens beschränkt sich der sehr verbreitete Hallimasch im allgemeinen auf eine Abtötung des Wurzelstockes (Zerstörung von Cambium und Rinde), während die übrigen Species meist eine allmähliche Aushöhlung des zunächst ungestört weiterlebenden Baumes bewirken; in selteneren Fällen wird davon vorzugsweise der Wurzelstock betroffen (Pholiota squarr., Polyp. giganteus), während die anderen Formen bekanntlich insbesondere höher gelegene Teile des Stammes bewohnen und von einer Verwundung aus lange Strecken desselben aushöhlen (Pholiota adiposa). Daß die Holzzersetzung gewöhnlich von einer Verletzung (Astwunde etc.) ausgeht, modifiziert ihren Charakter als Pilzkrankheit natürlich in keiner Weise.

Pholiota adiposa (Batsch.). Einer der häufigsten hierher gehörigen Pilze (so auf einem Terrain von einigen hundert Quadratmetern allein an 5 Bäumen aufgefunden und den Stamm auf weite Strecken hohl machend (Weißfäule). Die direkt aus dem freiliegenden Holzkörper oder kleinen Rindenwunden hervordringenden stattlichen Hüte pflegen ziemlich regelmäßig jährlich (September) wieder zu erscheinen.[1])

Pholiota squarrosa Müll. (Agaricus sq.). Gleichfalls häufiger, aber fast ausschließlich den Wurzelstock bezw. die Stammbasis von innen her zersetzend und so eine Kernfäule veranlassend (Weißfäule). Die Hüte dringen direkt aus der unverletzten Rinde am Grunde der Stämme und scheinen gleichfalls jährlich wieder zu erscheinen. An alten Stöcken habe ich den Pilz bislang nicht beobachtet, und schlugen auch Versuche, ihn in dem kranken Holze weiter zu züchten, fehl.

Pholiota aurivella Batsch. (Agaricus a.). Nur vereinzelt an noch stehenden Bäumen (öfter auf alten Stöcken).

Pleurotus ostreatus Jacq. (Agaricus o.). Am freiliegenden Holzkörper lebender Bäume wie an alten Stammresten. Der Pilz ist dadurch bemerkenswert, daß er leicht in Kultur zu ziehen ist und die auf Zuckerlösung aus den Sporen gezogenen Mycelien alsbald winzige Hüte (bis 1 cm groß) erzeugen, die in den wesentlichen Merkmalen mit den am Holze entstehenden übereinstimmen. In zwei Fällen entstanden sie in großer Zahl, teilweise mit centralem Stiel und schirmförmigem Hut.

Armillaria mellea Vahl. (Agaricus m.). Mehrfach lebende Buchen befallend, sich jedoch vorzugsweise auf eine von der Wurzel ausgehende Rindenzerstörung beschränkend. Sehr häufig (ebenso die bodenbewohnenden Rhizomorphen). Seine Hauptvegetation naturgemäß auf den Stöcken der abgeschlagenen eingegangenen Bäume; das Erscheinen der Hüte in den verschiedenen Jahren ist jedoch nicht gleichmäßig.

Armillaria splendens (Armillaria mucida Schrad.,

---

1) Auf die verderbliche Wirkung dieses Pilzes machte meines Wissens zuerst Tubeuf aufmerksam, demzufolge er auch Nadelbäume (Weißtanne) bewohnt.

Agaricus sp.). Die Hüte oft an dem freiliegenden im Zerfall begriffenen Stammholz, bis zu 20 cm im Durchmesser.

Polyporus hispidus (Bull.). Der Pilz kommt wiederholt an gesunden wie kränkelnden Bäumen jeden Alters und zwar vom Grunde aus in jeder Höhe vor (bis in die Krone) und verwandelt das helle Holz in eine poröse dunkler gefärbte Masse. Die unter starker Wasserausscheidung heranwachsenden erst farblosen Hüte erscheinen (wie in drei bestimmten Fällen festgestellt wurde) nicht jährlich.[2])

P. giganteus (Pers.). Vereinzelt an älteren aber bislang ganz gesund erscheinenden Buchen, aus deren unverletztem Grunde die großen Fruchtkörner gelegentlich massenhaft und allseitig hervorbrechen, so daß der praktische Charakter kaum bezweifelt werden kann.

P. frondosus Fr. Auf Buchenwurzeln nur selten (meist auf Eichen).

P. fomentarius Fr. An verletzten Stämmen kräftiger gesunder Bäume vereinzelt, doch mehr an alten Exemplaren (so insbesondere am Harz). In zwei Fällen wurden die durch ihn in halber Stammhöhe erkrankten Bäume an dieser Stelle vom Sturme gebrochen (Stadtwald).

XI. An Hainbuchen (Carpinus Betulus L.)

Der Baum erkrankt im Gebiete (speziell im Stadtwalde „Eilenriede") relativ häufig, unter den Erscheinungen einer alsbald zum Eingehen führenden Wipfeldürre, die stellenweise eine ganze Zahl benachbarter Bäume ergreift. Das gleichzeitige Bestehen einer umsichgreifenden Stockfäule wurde für mehrere Fälle festgestellt und Veranlasser dieser war:

Hypholoma fasciculare Huds. (Agaricus f.), welcher eine Weißfäule insbesondere des Wurzelholzes veranlaßt und somit vom Boden aus in den Holzkörper lebender Bäume eindringt. Er ist somit keineswegs bloß Bewohner toter Stöcke, wenngleich diese auch der Hauptort des Vorkommens seiner Hüte sind. Das Holz des Wurzelstockes verwandelt er in eine weiche leichte helle Masse aus der nach dem Ausgraben des gefällten Baumes massenhaft Fruchtkörper hervorbrechen. Inwieweit besondere Umstände (Bodenverhältnisse, Wunden etc.) die Infektion begünstigen, bleibt noch festzustellen.

Pholiota squarrosa Müll. (Agaricus s.) kam als Zersetzungserreger des Holzes lebender Stämme gleichfalls, doch vereinzelt, vor.

Pholiota adiposa Batsch. (Agaricus a.) und Pholiota mutabilis Schaeff. ebenso.

Armillaria mellea wie bei Buchen.

Exoascus Carpini Rostr. Zweigdeformationen durch diesen Pilz sind im Stadtwalde seltener, häufiger in den Anlagen (Georgengarten) und in anderen Teilen des Gebietes (Solling).

XII. An sonstigen Baumarten.

Von den genannten Pilzen trat Pholiota squarrosa (jährlich) zahlreich insbesondere an lebenden Eschen (Stammbasis und

2) Cf. auch die Angaben von Tubeuf, l. c.

Hauptwurzeln) auf, deren Holzkörper derselbe allmählich bis auf den Splint vollständig zersetzt. Andauernde Bodennässe ist hier offenbar von Bedeutung. An lebenden Erlen kamen Polyporus hispidus, sowie Pholiota alnicola (Agaricus a.) vor, sowie an eingestreuten Linden des Stadtwaldes Hypholoma fasciculare in gleicher Weise wie an Hainbuchen (Stockfäule erregend).

Linden, sowie auch Ulmen wurden vereinzelt gleichfalls durch Nectria cinnabarina Fr. geschädigt (Zweigabsterben); inwieweit endlich die verbreitete Ustulina vulgaris Tul. am Grunde lebender und dem Anschein nach gesunder Buchen, Linden etc. von nachteiliger Wirkung sein kann, bleibe dahingestellt; vielleicht ist ihre Bedeutung keine andere als die mancher an gleichem Orte verbreiteter und abgestorbene organische Materie konsumierender Myxomyceten. An Nadelbäumen endlich findet sich wieder Armillaria mellea, der wiederholt in jüngeren Fichtenbeständen, zumal des Sollings, auftrat, im Hannoverschen Stadtwalde jedoch ausschließlich Laubbäume bewohnt, somit in den eingestreuten Nadelbeständen (Kiefern, Fichten) hier regelmäßig fehlt. —

Auf eine Aufzählung der verschiedenen „Baumflüsse“ endlich glaube ich hier mit Recht verzichten zu sollen; wir sind zur Zeit noch nicht in der Lage, sie mit Sicherheit als Pilz-(bezw. Bakterien-) Krankheiten zu bezeichnen, und die Regelmäßigkeit des Auftretens bestimmter Organismen, die man in gleicher Weise als saprophyte Vegetation in den Blutungssäften findet, sagt über die Ursache des Saftausflußes einstweilen nichts aus, indeß sie als notwendige Folge ohne weiteres verständlich ist.

Ziehen wir ein kurzes Resumé, so dürften von den aufgezählten Krankheiten im ganzen nur einzelne als stärker ins Gewicht fallend betrachtet werden und das Resultat ist trotz des nassen Sommers kein auffällig ungünstiges. Von den Getreidekrankheiten kämen nur Schwärze und Staubbrand für enger begrenzte Lokalitäten in Betracht. Am ungünstigsten stellt sich die Kartoffel, hier ist aber gerade die verbreitetste Art der Knollenerkrankung (Braunfleckigkeit der Knollen) als ausschließliche Folge einer Pilzinvasion noch nicht ganz sicher gestellt und jedenfalls weiterer Aufmerksamkeit wert[1]). Verhältnismäßig nachteilig wurde auch die Monilia-Fäule des Obstes für manche Bezirke sowie die persistierende Holzfäule für das enger umschriebene Gebiet des hiesigen Stadtwaldes. In fast allen diesen Fällen kommt jedenfalls der Einfluß der andauernden Nässe des Spätsommers und Herbstes mit zum Ausdruck. Materiell weniger ins Gewicht fallend sind die übrigen Erkrankungen, deren praktische Bedeutung zu einem Teil fast gleich Null ist, womit im übrigen natürlich nicht ausgeschlossen ist, daß sie hier oder dort gelegentlich kleinere Verluste zur Folge haben. Wirtschaftlich spielen jedenfalls viele der oft genannten Pflanzenkrankheiten im all-

1) Daß der Pilz lebende Knollen infizieren kann, ist ja erwiesen und bekannt; die daraus gezogenen Folgerungen sind einstweilen aber berechtigten kritischen Einwendungen gegenüber noch nicht hinreichend gestützt, wenngleich sie ja fast allgemein angenommen sind.

gemeinen eine wesentlich geringere Rolle, als man aus der über sie vorliegenden wissenschaftlichen Litteratur zu folgern geneigt ist, ohne daß damit freilich das ihnen zukommende Interesse geschmälert wird.

Im übrigen erhebt die hier gegebene Aufzählung naturgemäß keinen Anspruch auf absolute Vollständigkeit, indem sie nur das selbst gesammelte oder mir gelegentlich übermittelte Material umfaßt. Es sind aber anderweitige Krankheiten nennenswerter Bedeutung (so z. B. auch auf Rüben) meines Wissens nicht vorgekommen.

Referate.

Lohmann, W., Ueber den Einfluß des intensiven Lichtes auf die Zellteilung bei Saccharomyces cerevisiae und anderen Hefen. [Inaug.-Diss.] Rostock 1896.

Der Verf. beschäftigt sich mit der Frage nach dem Einfluß, welchen das intensive Licht auf die Zellteilung bei Saccharomyces ausübt. Als Lichtquelle benutzt er eine Siemens'sche Differential-Bogenlichtlampe für 15 Ampère Stromstärke sowie das direkte Sonnenlicht. Als Versuchsobjekt wurde eine Hefe verwandt, welche der Versuchs- und Lehrbrauerei, Berlin N, entstammte. Aus Reinkulturen wurden einzelne Hefezellen auf Objektträger gebracht, welche mit Würzegelatine beschickt waren, wobei auf eine gleichmäßige Verteilung der Zellen geachtet wurde. Die Objektträger wurden dann unter gleichgehaltenen Bedingungen der Temperatur und der Feuchtigkeit in lichtdurchlässige und verdunkelte Glaskästchen gebracht und beleuchtet. Nach beendeter Einwirkung wurden die neu gebildeten Zellen durch Zählung ermittelt.

Aus den Versuchen ging bei einer großen Anzahl von Zählungen hervor, daß intensives elektrisches Licht auf die Zellteilung bei Saccharomyces cerevisiae hemmend einwirkt.

In der Verfolgung etwaiger Fehlerquellen, um diese zu eliminieren, findet der Verf., daß Hefe, bei Zimmertemperatur gezüchtet, erst dann wieder neue Sprossungen ansetzt, wenn die Temperatur annähernd auf den früheren Stand gebracht wird. Bei höheren Wärmegraden und bei längerer Einwirkung ist das Sprossen einer Hefekolonie ein progressiv gesteigertes. Dabei entwickelt sich meist die dritte Zelle aus der zweiten, ehe diese selbst ausgewachsen ist. Die Kolonieen sind fast immer paarig gesproßt, wobei die Zahlen 8 und 16 vorherrschen. Ein Wechsel des Nährmediums erwies sich bei den höheren Temperaturen oft verhängnisvoll.

Durch mehrere Versuchsreihen ließ sich konstatieren, daß bei starker und lang andauernder Belichtung die Zellteilung im Hellen wie im Dunkeln ziemlich gleichmäßig stattfinden. Der retardierende Einfluß des intensiven Lichtes macht sich erst bei höherer Temperatur geltend; so konnte z. B. erreicht werden, daß im Licht aus

einer Zelle 6,73, im Dunkeln 12,08 Zellen hervorgingen. Mit der Dauer der Beleuchtung steigert sich auch die Wirkung.

Das direkte Sonnenlicht wirkte in ähnlicher Weise: die meisten der im Dunkeln gehaltenen Zellen zeigten eine normale Weiterentwickelung, während diese bei Besonnung wesentlich gehemmt wurde. Im letzteren Falle waren die Zellen häufig geschrumpft und zeigten unregelmäßige Umrisse; ihr Plasma hatte sich zu Klumpen geballt, die meist an den Polen der Zellen lagen.

Auch zerstreutes Tageslicht von einiger Helligkeit bewirkt eine immerhin noch merkliche Verzögerung im Wachstum. Verf. giebt für diese Verzögerung die Verhältnisse 7,5:8 und 5,0:5,8 an.

Je nach der Dauer und Einwirkung der Besonnung tritt die Lichtstarre entweder so ein, daß sie nach Entfernung der Lichtquelle überwunden wird, oder aber bei höchster Intensität zum Tode führt.

Außer mit Saccharomyces cerevisiae operierte der Verf. mit gleichem Erfolge noch mit Mycoderma cerevisiae, mit Torula und mit Saccharomyces Pastorianus I, welcher sich gegen die gesteigerte Lichtwirkung viel widerstandsfähiger zeigte als die anderen. Grüß (Berlin).

Rippert, Paul, Der Einfluß der Säuregrade im Rahm auf die Butterausbeute. [Inaug.-Diss. Leipzig.] 8°. 46 p. Erfurt 1896.

Aus den Untersuchungen ergiebt sich folgendes:

Ein höherer Säuregrad bewirkt eine höhere Butterausbeute, wobei eine geringere Fettmenge in der Buttermilch zurückbleibt, als bei der Butterung mit süßem Rahm.

Süße Butter ist meist fettreicher als Sauerbutter.

Der Säuregrad, bei welchem die günstigste Ausbutterung erfolgt, liegt zwischen 35 und 40 Säuregraden, d. h. bei einer Säuremenge in 50 ccm Rahm, die durch 35 bis 40 ccm $^1/_{10}$ Normal-Natronlauge neutralisiert wird.

Bei noch weitergehender Säuerung steigt zwar die Ausbeute von Butter, aber deren Beschaffenheit ist nicht normal; sie ist arm an Fett, dagegen reich an Eiweißstoffen.

Ein bestimmter Einfluß der Säuerung auf die Dauer des Butterungsvorganges konnte nicht festgestellt werden; deren Dauer hängt in erster Linie von der Höhe der Temperatur und der Beschaffenheit des Butterungsmateriales ab.

Die Ansäuerung des Rahms mit Salzsäure bewirkt eine hohe Butterausbeute und einen geringen Fettgehalt der Buttermilch. Dabei ist aber die Butter infolge der hohen Butterausbeute fettärmer als natürliche Sauer- und Süßbutter. Die Buttermilch ist, wenn die Säure nicht abgestumpft wird, für den Genuß unbrauchbar.

Die verwendeten organischen Säuren als Milchsäure, Weinsäure, Citronensäure und Ameisensäure wirken in Bezug auf die Güte der Butter besser als Salzsäure. Die Butterausbeute ist zwar bei deren Anwendung nicht so groß, aber der Fettgehalt der Butter ist höher. Die Buttermilch ist ebenfalls fettarm und außer bei der Anwendung von Ameisensäure wohlschmeckend.

Die Haltbarkeit der aus süßem und aus natürlich saurem Rahm hergestellten Butter war eine sehr begrenzte, während die unter Anwendung von Salzsäure und organischen Säuren gewonnene Butter bei den vom Verf. angestellten Versuchen eine bedeutend erhöhte Haltbarkeit aufwies.

Ob sich das Verfahren der künstlichen Ansäuerung in der Praxis einführen wird, ist fraglich. Vielleicht mag es dort, wo Butterfehler, durch abnorme Bakterienwirkungen verursacht, auftreten, am Platze sein; doch lassen sich diese besser durch Sterilisation des Rahms und Verwendung reiner Milchsäurebakterien beseitigen, wodurch man außerdem noch in die Lage versetzt ist, Butter von größerer Haltbarkeit bez. mit angenehmem Geschmack herzustellen.

Eingehende Tabellen lassen die Versuche im Einzelnen verfolgen.

E. Roth (Halle S.).

Vaughan, Victor C. und **Perkins, George D.**, Ein in Eiscrême und Käse gefundener giftproduzierender Bacillus. (Archiv f. Hygiene. Bd. XXVII. Heft 4.)

Etliche 50 Personen erkrankten beim Genuß von Eiscrême, alle mehr oder minder bedenklich, desgleichen ca. 12 Personen an genossenem Käse. Todesfall trat keiner ein. Die Krankheitssymptome erfolgten nach 3—6 Stunden und bestanden hauptsächlich in Uebelkeit mit nachfolgendem Erbrechen und bei der Mehrzahl der Fälle mit Diarrhöe. Ferner war schwache Herzthätigkeit, Erkalten von Händen und Füßen sowie hernach des ganzen Körpers, bei einigen Patienten schwere Betäubung zu konstatieren. Die Verff. fanden in dem Eiscrême und in dem Käse einen Bacillus, der sowohl aërob als auch anaërob wächst. Nach seinen morphologischen und Wachstumseigenschaften, die von den Verff. eingehend studiert wurden, vermuteten dieselben anfänglich, daß der Bacillus zu der Colongruppe gehöre. Ein Vergleich mit Bacillus coli commune gab folgende Verschiedenheiten: „1) Der neue Bacillus giebt keine Indolreaktion. 2) Beide bringen Milch zum Gerinnen, aber der neue Keim wirkt rascher als Bac. coli. 3) Der angenehme buttersaure Aethergeruch der Milchkulturen des Eiscrêmebacillus entwickelt sich nicht in Kulturen des Colonbacillus auf dem gleichen Nährboden. 4) Der neue Keim wächst reichlich auf Gelbrüben, wo er eine erhabene rahmige Schicht bildet und einen sauren Geruch giebt, während der Colonbac. viel weniger kräftig wächst und keinen solchen Geruch erzeugt. Auf Zwiebeln wächst der neue Keim kräftig, indem er eine dicke grauliche Schicht bildet, die auch einen saueren Geruch entwickelt, während auf dem gleichen Nährboden der Colonbac. verhältnismäßig schwach wächst. Auf Bananen, Zwiebeln, Pastinaken und Aepfeln wächst der neue Bacillus viel reichlicher als der Colonbac. 5) Mit Rosolsäure gefärbte Milch wird von dem Eiscrêmebacillus viel rascher entfärbt als von dem Bacterium coli.“

Bei Meerschweinchen, Kaninchen, Katzen, Hunde, Mäuse, Ratten wirkt der Bacillus pathogen. Seine Virulenz wird gesteigert wenn er durch Tiere geführt wird. Die Versuche der Verff., die chemischen

Gifte des Bacillus zu isolieren, blieben erfolglos. Zum Schlusse machen die Verff. noch Mitteilungen über die Verfahren, die sie zur Isolierung der chemischen Bestandteile angewendet haben. Sie weisen besonders darauf hin, daß die Schwierigkeiten bei der Ausführung der Arbeiten oft groß sind und reichlich Gelegenheit zu Irrtümern geben.

Baier (Berlin).

Backhaus, Ueber Methoden, die Kuhmilch der Frauenmilch ähnlicher zu gestalten. (Journal für Landwirtschaft. Bd. XLIV. 1896. p. 279, 299.)

Um aus der Kuhmilch ein rationelles Nahrungsmittel für Kinder, denen die Mutterbrust versagt ist, oder für Kinder nach dem Abgewöhnen, herzustellen, erblickt man heute das beste Mittel darin, die Beschaffenheit der Frauenmilch möglichst zu erreichen. Dafür fehlt es nun nicht an Vorschlägen und lassen sich dieselben in 11 Gruppen einteilen, von welchen aber keine das Problem, aus der Kuhmilch in einer zur Anwendung in der großen Praxis geeigneten Weise ein der Frauenmilch ähnliches, insbesondere in der Beschaffenheit der Eiweißstoffe gleichkommendes Kindernahrungsmittel zu erzeugen, löst. Zur Lösung des Problemes, wozu noch Trinkfertigkeit und Sterilisierbarkeit kommen, erschien Verf. die Prüfung der schon seinerzeit vorgeschlagenen Molkenverwendung sehr aussichtsvoll, nachdem es durch die neueren Verbesserungen der Milchtechnik möglich erschien, die Umständlichkeit und lange Bereitungszeit des Verfahrens zu überwinden. Es wurde nun ein Präparat nach folgenden Gesichtspunkten hergestellt: Bereitung von frischer Molke aus Magermilch, die durch Centrifugieren aus sorgfältig gewonnener Vollmilch hergestellt war, abtöten des Labfermentes (durch Erhitzen auf 70°, wobei das Albumin noch nicht gerinnt), Zusatz von Rahm und Kondensation. Da die praktischen Resultate mit diesem Präparat günstige waren, so wurde die Bereitung von Kindermilch nach obigem Prinzip im großen durchgeführt. Das geschilderte Verfahren der Veränderung der Kuhmilch auf die Beschaffenheit der Frauenmilch löste allerdings die Erreichung eines zweckmäßigen Gehaltes an Eiweißstoffen und gleichzeitig die Erhöhung des Milchzuckergehaltes, aber es zeigte doch noch Nachteile; einmal den, daß auch der Salzgehalt durch Kondensation sich erhöhte und dann den anderen, daß die Kondensation im Vacuum in der milchwirtschaftlichen Praxis Schwierigkeiten darbietet und dadurch die Anwendung des Verfahrens nur in einzelnen größeren Fabriken möglich wird. Um nun auf andere Weise den gewünschten Gehalt an Eiweißstoffen zu erzielen, wurden daher Versuche mit Lösung des Kaseïns durch Fermente angestellt, und zwar wurde erprobt, ob in Kombination mit dem Labferment ein eiweißlösendes Ferment angewendet werden konnte. Hierzu erschien das Trypsin als das wirksamste. Die Versuche haben nun ergeben, daß auch ohne Alkalizusatz (Trypsin ist ein in alkalischer Flüssigkeit wirkendes Ferment) eine günstige Trypsinwirkung eintrat, daß aber durch selbst geringen Zusatz eine stärkere Eiweißlösung herbeigeführt wurde und daß ferner die Eiweißlösung proportional der zugesetzten Trypsinmenge verläuft.

Nachdem ein geringer Zusatz von Alkalien förderlich für die Trypsinwirkung und zugleich noch vereinbar mit der Labwirkung ist, so wurden Versuche mit verschiedenen Salzen und deren Einwirkung auf die Eiweißlösung angestellt. Hierbei hat sich nun gezeigt, daß die Einwirkung des kohlensauren Natrons von dem kohlensauren Kali und von einem Gemenge beider Salze erreicht wird, alle anderen Salze aber nicht der Wirksamkeit dieser gleichkommen.

Auf die Verwendung der Alkalien ganz zu verzichten, obwohl auch die Trypsinwirkung ohne Alkalizusatz genügend ist, erscheint aus verschiedenen Gründen nicht rationell. Der Alkalizusatz muß aber unter 1 Proz. bleiben, einmal durch das Lab durch die Bräuung, die bei stärkerem Alkalizusatz während des Sterilisierens der Milch eintritt.

Trotzdem der Aschegehalt der Kuhmilch durch die Lab-Trypsinwirkung beträchtlich erniedrigt wird, so ist derselbe doch noch ca. 0,3 Proz. höher als wie in der Frauenmilch. Eine Reduktion der Asche führt aber einerseits zu großen Komplikationen und anderen Nachteilen und andererseits mag zunächst durch klinische Beobachtungen festgestellt werden, ob überhaupt dieser geringe Mehrgehalt an Asche Schädlichkeiten zeigt.

Die Herstellung der Trypsinmilch ist bereits im großen eingeführt worden, wodurch das Problem auch in der Praxis gelöst erscheint. Versuche an Säuglingen haben bis jetzt gezeigt, daß dieselben gut gedeihen, wenn die Herstellung richtig gehandhabt wird. Ob es mit dem Verfahren möglich ist, wie beabsichtigt, eine bessere Milchverwertung für den Landwirt und eine Besserung der künstlichen Säuglingsernährung zu erzielen, wird davon abhängig sein, wie weit es den Landwirten und Milchtechnikern gelingt, die wissenschaftlichen Forschungsergebnisse sowohl in Bezug auf die chemische Veränderung der Kuhmilch als auch in Bezug auf die Gewinnung der Kuhmilch und Sterilisation in der großen Praxis anzuwenden. Stift (Wien).

Schwartz, Die Vorzüge ungekochter Ziegenmilch als Nahrungsmittel für Kinder. (Vortrag auf der Versammlung der Gesellschaft deutscher Naturforscher und Aerzte in Frankfurt a. M., Sept. 1896. — Aus Milchzeitung. 1896. No. 44.)

Redner sprach sich hauptsächlich dahin aus: „Fast die Hälfte des Rindviehs kann tuberkulosekrank sein, selbst in den besten Ställen; es ist daher kein Wunder, wenn Milch solcher Kühe Tuberkelbacillen enthält.“

Von der sterilisierten Milch ist man teilweise schon abgekommen, da durch das Erhitzen der Milch das Kaseïn in einen schwer verdaulichen Zustand übergeht. Redner empfiehlt Ziegenmilch als Säuglingsnahrung, da die Ziegen meist weniger zur Tuberkulose geneigt sind und häufig nur bei Berührung mit tuberkulösem Vieh infiziert werden. Nach französischen Annahmen soll das Blutserum der Ziegen ein Heilmittel gegen Tuberkulose sein. Baier (Berlin).

Untersuchungsmethoden, Instrumente etc.

Dyes, Wilhelm, August, Ueber Reindarstellung der Gärungsmilchsäure mit einleitenden Versuchen über Destillation im Vakuum der Quecksilberluftpumpe. [Inaug.Diss. Bern.] 8°. 44. p. 1. Doppeltafel. Hildesheim 1895.

Die bisher nur als Syrup bekannte Gärungsmilchsäure $C_3H_6O_3$ —$2C_3H_6O_3$, deren Existenzfähigkeit als Hydrat nicht festgestellt werden konnte, ist in diesem Zustande durch Destillation im luftverdünnten Raume zu erhalten. Reines Milchsäurehydrat ist bei gewöhnlicher Temperatur eine klare, stark lichtbrechende Flüssigkeit, welche durch ihre Hygroskopicität ausgezeichnet ist. Spez. Gewicht bis 1,23 (25°). In starker Kälte erstarrt reine Milchsäure zu einem festen krystallinischen Körper von weißer Farbe, dessen Schmelzpunkt vorläufig +18° ist. Bei der Destillation tritt partielle Zersetzung ein, welche bei schnellem Destillieren und geringer Ueberhitzung auf ein sehr geringes Maß beschränkt bleibt. Die Zersetzlichkeit kommt nicht nur beim Destillieren zum Vorschein, sondern zeigt sich auch schon nach mehrtägigem Stehen über Schwefelsäure im evakuierten Exsiccator oder sogar schon beim Stehen in warmer Sommerluft. Indessen kann man durch Trocknen anhydridfreier Säure bis zu einer hochprozentigen Säure (95—96 Proz. Säurigkeit) gelangen, wenn man mit dem Trocknen vor eintretender Anhydrisierung aufhört. Der Siedepunkt des Milchsäurehydrates $C_3H_6O_3$ wurde beobachtet unter 14 mm Druck bei 120—121°; bei 13 mm Druck bei 119—120° und unter 12 mm Druck bei 119°.

Verf. teilt noch eine Reihe von Siedepunkt- und Sublimationsbestimmungen mit der L. von Babo'schen Quecksilberwasserpumpe mit, auf die hier hingewiesen sei. E. Roth (Halle S.).

Corrigendum.

In dem Artikel von A. Stutzer und R. Hartleb, „Ueber Nitratbildung", muß es p. 701 Zeile 8 von unten heißen: Unter gewissen Verhältnissen lebt der Schimmelpilz von organischen Stickstoffverbindungen und vermag dann Nitrifikation nicht zu veranlassen, unter anderen Bedingungen erzeugen dessen Dauerformen Nitrit und unter wieder anderen Verhältnissen Nitrat.

Inhalt.

Systematisches Inhaltsverzeichnis.

I. Wissenschaftliche Originalmitteilungen.

II. Zusammenfassende Uebersichten.

III. Originalreferate aus Instituten etc.

IV. Allgemeines über Mikroorganismen und Parasiten.

V. Systematik, Morphologie und Biologie.

Allgemeine Morphologie und Biologie.

Fäulnis.

Nitrifikation etc.

VI. Fermente und Gärung. (Gärungsphysiologie.)

VII. Beziehungen der Bakterien etc. zur unbelebten Natur.

Luft.

Wasser.

Boden.

Nahrungs- und Genußmittel.

Milch und Molkerei.

Bierbrauerei und Brennerei.

Wein und Weinbereitung.

Andere Nahrungs- und Genußmittel.

Preßhefe.

Wohnung.

Gebrauchsgegenstände etc.

VIII. Beziehungen der Bakterien etc. und Parasiten zu Pflanzen.

IX. Untersuchungsmethoden und Instrumente.

X. Entwickelungshemmung und Vernichtung der Bakterien und Parasiten.

XI. Neue Litteratur.

XII. Autorenverzeichnis.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.